

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARACELIA SALVADORI PALMA

APLICAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGA EM SEMENTES DE SOJA PARA
MITIGAÇÃO DO ESTRESSE SALINO

CURITIBA

2021

MARACELIA SALVADORI PALMA

APLICAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGA EM SEMENTES DE SOJA PARA
MITIGAÇÃO DO ESTRESSE SALINO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias,
Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maristela Panobianco
Vasconcellos

Coorientador: Prof. Dr. Átila Francisco Mógor

CURITIBA

2021

Palma, Maracelia Salvadori

Aplicação de biomassa de microalga em sementes de soja para mitigação do estresse salino. / Maracelia Salvadori Palma. - Curitiba, 2021.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal.

Orientador: Maristela Panobianco Vasconcellos.

Coorientador: Átila Francisco Mógor.

1. Soja - Semente - Crescimento. 2. Biomassa. 3. Aminoácidos na nutrição. 4. Microalgas. I. Vasconcellos, Maristela Panobianco. II. Mógor, Átila Francisco. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MARACELIA SALVADORI PALMA** intitulada: **APLICAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGA EM SEMENTES DE SOJA PARA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE SALINO**, sob orientação da Profa. Dra. MARISTELA PANOBIANCO VASCONCELLOS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 11 de Dezembro de 2020.

Assinatura Eletrônica

11/12/2020 11:57:39.0

MARISTELA PANOBIANCO VASCONCELLOS

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

11/12/2020 11:35:17.0

ÁTILA FRANCISCO MÓGOR

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

11/12/2020 11:32:41.0

ADRIANA MARTINELLI SENEME

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Rua dos Funcionários, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80035-050 - Tel: (41) 3350-5601 - E-mail: pgapv@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 65537

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 65537

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e proteção.

A minha família, amigos e namorado.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Maristela Panobianco Vasconcellos, por ter, de certa forma, me influenciado a fazer o mestrado, e por todos esses anos de conselhos e ensinamentos.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Átila Francisco Mógor, pela paciência e dedicação ao trabalho, que me inspiraram.

Ao grupo de estudo Ciência e Tecnologia de Sementes e Grupo de Estudos em Biofertilizantes, por toda ajuda, parceria e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Obrigada!

RESUMO

A soja é o principal grão oleaginoso produzido e consumido mundialmente, devido a sua alta produção de proteína e diversidade de produtos. Em condições salinas, os danos na semente causam alterações no metabolismo, reduzindo a germinação e crescimento das plântulas, além da nodulação. As microalgas apresentam importantes características estimulantes, mas seu uso ainda é pouco difundido para a promoção do crescimento vegetal. Objetivou-se avaliar o efeito do uso da biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare*, obtida em sistema de produção mixotrófico, como fonte de aminoácidos livres para aplicação em sementes, na germinação, no crescimento de plântulas e no desenvolvimento das plantas, em condições salinas. A bioatividade da biomassa foi identificada por meio de bioensaio, promovendo o aumento do volume de hipocótilos de plântulas de tomate. O experimento foi realizado com duas cultivares de soja (Lança e Zeus), em duas etapas: a primeira, realizada no Laboratório de Análise de Sementes-UFPR, para determinar as concentrações críticas de NaCl e as melhores doses de biomassa para serem utilizadas na segunda etapa, a qual foi realizada em casa de vegetação, no Laboratório de Biofertilizantes da Fazenda Experimental Canguiri-UFPR, Pinhais-PR. Primeiramente testaram-se diferentes níveis de salinidade (zero, 40, 60 e 80 mmol L⁻¹ de NaCl) e concentrações da biomassa da microalga misturada com inoculante de *Bradyrhizobium japonicum* (zero; 1; 1,5; 2,0 e 2,5 mg L⁻¹) aplicados às sementes, avaliando a germinação e crescimento inicial de plântulas em condições controladas. Empregou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema de fatorial triplo, realizando-se análise de variância e comparação de médias por Tukey. A germinação das sementes diminuiu com 60 mmol L⁻¹ de NaCl e não teve diferença entre as cultivares; a aplicação via sementes de biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* foi importante para a manutenção do poder germinativo das sementes em condição salina. A salinidade afetou negativamente o comprimento das plântulas e das raízes. A aplicação da biomassa de *A. quadricellulare* nas doses de 1,5 e 2,5 mg L⁻¹ colaboraram para o aumento do comprimento das raízes e parte aérea das plântulas. A partir desses resultados, selecionou-se para o segundo experimento as doses da biomassa de *A. quadricellulare* em mistura com inoculante *Bradyrhizobium japonicum*: zero; 1,5 e 2,5 mg L⁻¹, e as concentrações de zero; 60 e 80 mmol L⁻¹ de NaCl. Em casa de vegetação, o uso da biomassa da microalga *A. quadricellulare* nas sementes, foi eficaz para mitigar os danos no desenvolvimento das plantas de soja, colaborando para o aumento da altura, área foliar e diâmetro dos nódulos em condições salinas, bem como no número de nódulos sem salinidade, sendo eficientes as doses de 1,5 e 2,5 mg L⁻¹. A aplicação de *A. quadricellulare* estimulou o metabolismo de aminoácidos das plantas. O aumento da prolina e da atividade das enzimas antioxidantes foram importantes para mitigar os danos do estresse salino. Sendo assim, considera-se promissor o uso da microalga *A. quadricellulare* como fonte de aminoácidos livres para biofertilizantes, por apresentar bioatividade promovendo o crescimento e mitigando os efeitos do estresse salino em soja ao estimular o sistema antioxidante das plantas.

Palavras-chave: Glycine max, *Asterarcys quadricellulare*, germinação, salinidade.

ABSTRACT

Soy is the main oilseed grain produced and consumed worldwide, due to its high protein production and product diversity. In saline conditions, damage to the seed causes changes in metabolism, germination and seedling growth, in addition to nodulation. Microalgae have stimulating characteristics, but their use is still not widespread for the promotion of plant growth. The objective was to evaluate the effect of using the biomass of the microalgae *Asterarcys quadricellulare*, obtained in a mixotrophic production system, as a source of free amino acids for application in seeds, germination, seedling growth and plant development, in saline conditions. The bioactivity of the biomass was identified by means of a bioassay, promoting an increase in the volume of hypocotyls from tomato seedlings. The experiment was carried out with two soybean cultivars (Lança and Zeus), in two stages: the first, performed at the Seed Analysis Laboratory-UFPR, to determine the critical NaCl levels and the best biomass doses to be used in the second stage, which was carried out in a greenhouse, at the Biofertilizer Laboratory of Fazenda Experimental Canguiri - UFPR, Pinhais-PR. Firstly, different salinity levels (zero, 40, 60 and 80 mmol L⁻¹ of NaCl) and biomass concentrations of the microalgae mixed with inoculant of *Bradyrhizobium japonicum* (zero; 1; 1.5; 2.0 and 2, 5 mg L⁻¹) applied to the seeds, evaluating the germination and initial growth of seedlings under controlled conditions. A completely randomized design was used, in a triple factorial scheme, with analysis of variance and comparison of means by Tukey. Seed germination decreased with 60 mmol L⁻¹ of NaCl and there was no difference between cultivars; the application via biomass seeds of microalgae *Asterarcys quadricellulare* was important for maintaining the germinative power of seeds in saline condition. Salinity negatively affected the length of seedlings and roots. The application of *A. quadricellulare* biomass at doses of 1.5 and 2.5 mg L⁻¹ helped to increase the length of the roots and aerial part of the seedlings. From these results, the doses of the biomass of *A. quadricellulare* were selected for the second experiment mixed with inoculant *Bradyrhizobium japonicum*: zero; 1.5 and 2.5 mg L⁻¹, and concentrations of zero; 60 and 80 mmol L⁻¹ of NaCl. In a greenhouse, the use of *A. quadricellulare* microalgae biomass in the seeds was effective in mitigating the damage in the development of soybean plants, contributing to the increase in height, leaf area and nodule diameter in saline conditions, as well as in number of nodules without salinity, with doses of 1.5 and 2.5 mg L⁻¹ being efficient. The application of *A. quadricellulare* stimulated the metabolism of plant amino acids. The increase in proline and the activity of antioxidant enzymes were important to mitigate the damage from salt stress. Therefore, the use of the microalgae *A. quadricellulare* as a source of free amino acids for biofertilizers is considered promising, as it presents bioactivity promoting growth and mitigating the effects of salt stress in soybeans by stimulating the antioxidant system of plants.

Keywords: Glycine max, *Asterarcys quadricellulare*, germination, salinity.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

FIGURA 1 - VALORES DO VOLUME DE HIPOCÓTILOS DE TOMATE EM BIOENSAIO CONDUZIDO EM CÂMARA DE CRESCIMENTO (B.O.D.) COM CAIXAS GERBOX FORRADAS COM PAPEIS DE FILTRO EMBEBIDOS EM SOLUÇÕES COM AS CONCENTRAÇÕES DE 0,0; 1,0; 1,5; 2,0 E 2,5 MG L ⁻¹ DA BIOMASSA SECA D <i>A.quadricellulare</i>	45
TABELA 1 - PORCENTAGEM DE GERMINACAO DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L ⁻¹ ; 1,0 mg L ⁻¹ ; 1,5 mg L ⁻¹ ; 2,0 mg L ⁻¹ E 2,5 mg L ⁻¹ DE BIOMASSA DE <i>A.quadricellulare</i> E SALINIDADE (0 mmol L ⁻¹ ; 40 mmol L ⁻¹ ; 60 mmol L ⁻¹ E 80 mmol L ⁻¹ DE NaCl).....	47
TABELA 2 - COMPRIMENTO DE PARTE AÉREA (cm), COMPRIMENTO DE RAIZ (cm) E VOLUME DE RAIZ (cm ²) DAS PLANTULAS DE SOJA EM LABORATÓRIO, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L ⁻¹ ; 1,0 mg L ⁻¹ ; 1,5 mg L ⁻¹ ; 2,0 mg L ⁻¹ E 2,5 mg L ⁻¹ DE BIOMASSA DE <i>A.quadricellulare</i>) E SALINIDADE (0 mmol L ⁻¹ ; 40 mmol L ⁻¹ ; 60 mmol L ⁻¹ E 80 mmol L ⁻¹ DE NaCl).....	49
TABELA 3 - VALORES TEOR RELATIVO DE CLOROFILA DAS DUAS CUTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L ⁻¹ ; 1,5 mg L ⁻¹ E 2,5 mg L ⁻¹ DE BIOMASSA DE <i>A.quadricellulare</i>) E SALINIDADE (0 mmol L ⁻¹ ; 60 mmol L ⁻¹ E 80 mmol L ⁻¹ DE NaCl).....	51
TABELA 4. VALORES DE COMPRIMENTO DE PARTE AÉREA (cm); ÁREA FOLIAR (cm ²); MASSA FRESCA DE PARTE AÉREA (g) E MASSA SECA DE PARTE AÉREA (g) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L ⁻¹ ; 1,5 mg L ⁻¹ E 2,5 mg L ⁻¹ DE BIOMASSA DE <i>A.quadricellulare</i>) E SALINIDADE (0 mmol L ⁻¹ ; 60 mmol L ⁻¹ E 80 mmol L ⁻¹ DE NaCl).....	52
TABELA 5 - VALORES DE COMPRIMENTO DE RAIZ (cm); VOLUME DE RAIZ (cm ³); MASSA FRESCA DE RAIZ(g) E MASSA SECA DE RAIZ (g) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L ⁻¹ ; 1,5 mg L ⁻¹ E 2,5 mg L ⁻¹ DE BIOMASSA DE <i>A.quadricellulare</i>) E SALINIDADE (0 mmol L ⁻¹ ; 60 mmol L ⁻¹ E 80 mmol L ⁻¹ DE NaCl).....	54
TABELA 6. VALORES DE COMPRIMENTO DE RAIZ NO DIÂMETRO DE 0,0 A 0,5 mm (cm); COMPRIMENTO DE RAIZ NO DIÂMETRO DE 0,5 A 1,0 mm (cm) E COMPRIMENTO DE RAIZ NO DIÂMETRO DE 1,0 A 1,5 mm (cm); DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L ⁻¹ ; 1,5 mg L ⁻¹ E 2,5 mg L ⁻¹ DE BIOMASSA DE <i>A.quadricellulare</i>) E SALINIDADE (0 mmol L ⁻¹ ; 60 mmol L ⁻¹ E 80 mmol L ⁻¹ DE NaCl).....	56

TABELA 7 - VALORES DE NÚMERO DE NÓDULOS; VOLUME DOS NÓDULOS (cm³) E DIÂMETRO DOS NÓDULOS (mm) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A.quadricellulare*) E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).....58

TABELA 8 - VALORES DE AMINOÁCIDOS LIVRES TOTAIS NAS FOLHAS (µG G⁻¹); AMINOÁCIDOS LIVRES TOTAIS NAS RAÍZES (µG G⁻¹) E PROTEINA NAS FOLHAS (µG G⁻¹) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A.quadricellulare*) E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).....60

TABELA 9 - VALORES DE PROLINA NAS FOLHAS (µG G⁻¹) E PROLINA NAS RAÍZES (µG G⁻¹) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A.quadricellulare*) E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).....61

TABELA 10. VALORES DE CLOROFILA *a* (mg g⁻¹); CLOROFILA *b* (mg g⁻¹); CLOROFILA TOTAL (mg g⁻¹) E CAROTENOIDES (mg G⁻¹) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A.quadricellulare*) E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).....63

TABELA 11. VALORES DE ÇÚCARES TOTAIS NAS FOLHAS (µg g⁻¹); AÇÚCARES REDUTORES NAS FOLHAS (µg g⁻¹) E AÇÚCARES NÃO REDUTORES NAS FOLHAS (µg g⁻¹) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A.quadricellulare*) E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).....64

TABELA 12 - VALORES DE AÇÚCARES REDUTORES NAS RAÍZES (µg g⁻¹); AÇÚCARES NÃO REDUTORES NAS RAÍZES (µg g⁻¹) E DPPH (% DE INIBIÇÃO) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A.quadricellulare*) E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).....66

TABELA 13 –VALORE DE PEROXIDASE (POD), SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) E CATALASE (CAT) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE MICROALGA VIA SEMENTES (0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A.quadricellulare*) E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).....68

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 CULTURA DA SOJA	12
2.2 ESTRESSE SALINO	13
2.2.1 Estresse salino na cultura da soja.....	18
2.3.1 Microalgas	19
2.3.2 Tratamento de sementes.....	24
REFERÊNCIAS GERAIS	27
3. CAPÍTULO I – APLICAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGA EM SEMENTES DE SOJA PARA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE SALINO	36
3.1 INTRODUÇÃO	38
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.2.1 Experimento 1	40
3.2.2 Experimento 2	41
3.2.2.1 Avaliações biométricas.....	42
3.2.2.2 Análises bioquímicas dos tecidos vegetais	42
3.3 RESULTADOS.....	46
3.4 DISCUSSÃO	68
3.5 CONCLUSÕES	76
3.6 AGRADECIMENTOS	76
REFERÊNCIAS.....	77
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
REFERÊNCIAS.....	84

1 INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade é um dos estresses abióticos que mais limita o crescimento e a produtividade das plantas em todo o mundo. As altas concentrações de sal no solo podem restringir a divisão, o alongamento celular e a mobilização de reservas para os diferentes órgãos das plântulas em desenvolvimento (ALVES et al., 2013), com reflexos negativos na germinação de sementes, alteração no metabolismo, induzindo mudanças anatômicas, morfológicas e bioquímicas nas plantas (SALES et al., 2015).

Além disso, o estresse salino pode acarretar a formação excessiva das espécies reativas de oxigênio (EROs), causando danos oxidativos. As plantas se defendem dos danos oxidativos causados pelas EROs por meio da produção de enzimas antioxidantes e acúmulo de solutos compatíveis, como açúcares e aminoácidos (CAVERZAN et al., 2016; AHANGER et al., 2017).

A soja é um dos produtos agrícolas de maior importância socioeconômica no Brasil (EMBRAPA, 2016), por se tratar do principal grão oleaginoso produzido e consumido mundialmente. Porém, é considerada uma planta glicófita, ou seja, sensível aos sais, com todos os estádios de desenvolvimento afetados negativamente pelo estresse salino, prejudicando significativamente o crescimento, características agrônômicas, qualidade e produtividade, por sofrerem desequilíbrios nutricionais e estresse oxidativo (DEINLEIN et al., 2014). A salinidade também reduz a atividade das bactérias fixadoras de nitrogênio, afetando assim a nodulação da soja (ELSHEIKH e WOOD, 1995).

As microalgas são uma alternativa sustentável em potencial para a promoção de crescimento, melhoria de condições de raiz e a proteção das culturas agrícolas (GARCIA-GONZALEZ e SOMMERFELD, 2016). O uso de biomassa de microalgas como biofertilizantes tem sido objeto de estudos recentes (MÓGOR et al., 2017), por trazer diversas vantagens para as culturas, além de propiciar crescimento vigoroso e maior rendimento, absorção de nutrientes e resistência a estresses bióticos e abióticos (TARRAF et al., 2015), devido a sua capacidade antioxidante e o alto teor de aminoácidos na sua biomassa (BOROWITZKA, 2013).

Portanto, tecnologias que resultem na redução dos impactos da salinidade, visando a manutenção, proteção e incremento no desempenho inicial das plântulas e desenvolvimento das culturas, com foco na sustentabilidade dos sistemas, vêm apresentando muitos efeitos benéficos. Para proporcionar melhor desenvolvimento inicial, vigor de plântulas e uniformidade inicial do estande, o emprego de microalgas no tratamento de sementes pode ser uma técnica promissora.

Sendo assim, teve-se como hipótese no presente trabalho, que a biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* como fonte de aminoácidos livres, pode mitigar os efeitos causados pelo estresse salino na germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas de soja ao ser aplicada às sementes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DA SOJA

O complexo agroindustrial da soja tem grande importância socioeconômica, por se tratar do principal grão oleaginoso produzido e consumido mundialmente, movimentando diversos setores socioeconômicos, como empresas de pesquisa e desenvolvimento, fornecedores de insumos, indústrias de máquinas e equipamentos, produtores rurais, cooperativas agropecuárias, processadoras, produtores de óleo, fabricantes de ração e usinas de biodiesel, dentre outras (HIRAKURI e LAZZAROTTO, 2014).

A alta produtividade da soja permitiu ao Brasil ocupar posição de destaque entre os maiores produtores mundiais, por meio do desenvolvimento de pesquisas e tecnologias, gerando resultados promissores e colocando o Brasil em competitividade no mercado mundial. Com uma produção estimada de 3.168 kg ha⁻¹ e, ocupando uma área cultivada de 35,818 milhões de hectares (CONAB, 2019), a soja é um dos produtos mais importantes do agronegócio. Um dos fatores que auxiliam a manter e assegurar o bom desempenho desta cultura é a utilização de semente com ótima qualidade e germinação, capazes de estabelecer um bom desenvolvimento a campo (HERMES et al., 2015).

Dicotiledônia da família das Fabaceae, possui ciclo de duração variando de 60 a 120 dias, podendo em geral ser classificada conforme a sua maturação como precoce, semiprecoce, médio e tardia. É uma cultura fortemente influenciada pelo fotoperíodo, podendo ocorrer problemas no florescimento em casos em que a luminosidade for baixa durante a fase vegetativa; consequentemente, com perdas na sua produtividade (NUNES, 2016).

A soja apresenta alta quantidade de proteína (36-40%) e teor de óleo (18-20%) (LIMA et al., 2015) e requer grande quantidade de nitrogênio durante seu ciclo. Um dos benefícios da cultura, é a capacidade de simbiose com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, que realizam o processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico e formam nódulos nas raízes da planta (MACHADO, 2013).

Em condições de campo, entre cinco e oito dias após emergência, já é possível observar a formação dos primeiros nódulos radiculares, sendo desejáveis nódulos com tamanho igual ou superior a 2 mm. Após o período inicial, a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio se intensificam até o período de formação das vagens. No enchimento de grãos, começa o processo de senescência, alterando a coloração da leghemoglobina para tons esverdeados (HUNGRIA et al., 2003).

Alguns fatores são determinantes para a formação dos nódulos e fixação biológica do nitrogênio, tais como: disponibilidade hídrica, temperatura e pH do solo, salinidade, toxinas e predadores podem alterar o desenvolvimento e capacidade dos nódulos. A fixação biológica do nitrogênio é a principal fonte de N para a cultura da soja (EMBRAPA, 2013).

Dada a importância da cultura, deve-se ter atenção ao manejo do solo e da água durante o processo de produção, uma vez que tais fatores interferem tanto na qualidade fisiológica (germinação, vigor, plântulas anormais, comprimento de raiz e parte aérea, massa fresca e seca da raiz) quanto na produtividade final. A utilização incorreta de técnicas agrícolas, como excesso de adubações, irrigação inadequada e utilização de água com elevados teores de sódio, tende a alterar a composição química e física dos solos férteis, favorecendo significativamente a salinização (PESSOA et al., 2010).

A soja é considerada uma planta glicófita, ou seja, sensível aos sais, com todos os estádios de desenvolvimento afetados negativamente pelo estresse salino (PHANG et al., 2008). As plantas glicófitas podem sofrer desequilíbrios nutricionais e estresse oxidativo quando submetidas a estresses salinos (DEINLEIN et al., 2014).

2.2 ESTRESSE SALINO

Estresses ambientais como o hídrico, a salinidade e de temperatura causam, em geral, problemas para o desenvolvimento e produção das plantas (NEGRÃO et al., 2016). Segundo a FAO (2015), a salinização dos solos e dos recursos hídricos é um problema recorrente em todo o mundo, que ocorre por diversos fatores, entre eles a frequência de eventos climáticos extremos; expansão da agricultura irrigada; uso de fontes de água marginais; deficiência

de drenagem; aumento do nível do mar; degradação de vegetação perene; práticas culturais inadequadas, entre outros.

A qualidade da água utilizada para irrigação e as aplicações de fertilizante em altas quantidades são agentes que favorecem o aumento da salinidade do solo, podendo reduzir a produtividade das culturas e limitar a produção agrícola, principalmente em regiões áridas e semiáridas (DIAS e BLANCO, 2010).

A salinidade do solo está se tornando uma grande ameaça para a produção de culturas agrícolas; aproximadamente um terço da terra produtora de alimentos é afetada pela salinidade (GREGORY et al., 2018) e se estima que metade de toda terra fértil será atingida em meados do século XXI (SHAHID et al., 2018), com uma taxa de aumento de áreas de 10% ao ano (SHRIVASTAVA e KUMAR, 2015). No Brasil, o problema se expande por toda extensão territorial, principalmente na região do Nordeste, devido a características físico-químicas dos solos e do clima (SILVA et al., 2011), onde aproximadamente 30% dos solos se encontram com problema de salinização (FAO, 2015).

Os sais presentes nos solos dificilmente são lixiviados e se acumulam em quantidades prejudiciais ao crescimento das plantas, afetando os processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos. O excesso de sais causa aumento na pressão osmótica do solo, aumentando as forças de retenção, isso dificulta a embebição pelos tecidos das raízes, podendo atingir um nível onde as plantas não irão absorver água, mesmo se o solo tiver úmido, levando à seca fisiológica (SHAHID et al., 2018).

As plantas reagem ao estresse salino de várias formas, como por exemplo pelo fechamento de estômatos, que inibe a assimilação de CO_2 e, consequentemente, desencadeia uma série de eventos, como redução das cadeias de transporte de elétrons plastidiais e mitocondriais, ocorrendo aumento da produção das EROs, danificando proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (BATISTA-SILVA et al., 2018).

O estresse salino afeta a disponibilidade, a absorção e a translocação de nutrientes na planta. A presença de altas concentrações de íons Na^+ e Cl^- na zona da raiz causa desequilíbrio iônico e nutricional, pois esses íons interferem em outros elementos, como boro, zinco, cálcio, cobre, magnésio, ferro,

nitrogênio, fósforo e potássio (AHMED et al, 2011), causando prejuízos nas funções dos sistemas enzimáticos e síntese proteica (HOLANDA FILHO et al., 2011), levando ao estresse oxidativo nas plantas (REHMAN et al., 2019).

Os efeitos tóxicos acontecem quando as plantas absorvem os sais do solo, juntamente com a água. Esse excesso de sais na planta promove desbalanceamento e danos ao citoplasma, resultando em danos, principalmente na bordadura e no ápice das folhas, que em estágios avançados promove sua queda prematura (DIAS e BLANCO, 2010).

Outra importante dificuldade de plantas mantidas em condições de estresse é a redução da eficiência fotossintética, principalmente devido à redução na área foliar, condutância estomática e níveis de clorofila (WARAICH et al., 2011). De acordo com Pak et al. (2009), as plantas quando estão em estresse salino comprometem a fotossíntese devido a inibição do ácido 5-aminolevulinato, que é a molécula precursora da clorofila, e promove inibição no processo respiratório, na assimilação de nitrogênio e no metabolismo de proteínas.

Um dos impactos mais prejudiciais da salinidade é o distúrbio nas estruturas celulares como membranas, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. A peroxidação da membrana devido ao excesso de sal resulta na perda da integridade da membrana e causa vazamento dos constituintes celulares, causando problemas no crescimento da planta (ALQARAWI et al., 2014). As enzimas lipases, amilases, proteinases, desidrogenases e fosfatases têm suas atividades reduzidas em decorrência do decréscimo da qualidade fisiológica das sementes (BEWLEY e BLACK, 1994).

Além disso, a salinidade é um dos estresses abióticos que mais limita o crescimento das plantas, com reflexos negativos na germinação (SALES et al., 2015). A germinação de sementes e o estabelecimento da plântula são inibidos, visto que o gradiente de potencial hídrico entre a semente e o solo é reduzido e o metabolismo é alterado de forma significativa, interferindo inicialmente no processo de absorção de água pelas sementes, levando à inibição na mobilização das reservas e distúrbios no sistema de membranas do eixo embrionário (MARQUES et al., 2011).

Bertagnolli et al. (2004), utilizando sementes de soja imersas em diferentes concentrações de NaCl, concluíram que soluções salinas têm efeito

danoso nas membranas celulares, ocasionando alterações na integridade das membranas das sementes e, conseqüentemente, essa vulnerabilidade das sementes. Segundo os autores, potenciais hídricos muito negativos, especialmente no início da embebição, limitam a absorção de água provocando falta de energia para desencadear os processos metabólicos, podendo inviabilizar a sequência de eventos do processo germinativo.

Durante a germinação, as enzimas hidrolíticas α e β -amilases, produzidas em resposta à ação das giberelinas, estão envolvidas no principal sistema de degradação de carboidratos (amido) das sementes, e são responsáveis por hidrolisar as reservas endospermicas de forma que possam ser utilizadas pelo eixo embrionário em desenvolvimento (MUNIZ et al., 2007); porém, essas enzimas apresentam redução de sua atividade em decorrência a salinidade, comprometendo a qualidade fisiológica das sementes e conseqüentemente o desenvolvimento da plântula (RAHIMI e BANDANI, 2014).

Na fase inicial de cultivo, a salinidade inibe a absorção de água, alongamento celular, desenvolvimento radicular e formação de novas folhas; posteriormente, ocorre a acumulação dos íons salinos que causam senescência prematura, diminuição das funções das enzimas e inibição da fotossíntese (ROY et al., 2014).

Condições de salinidade interrompem também a produção e distribuição de hormônios que podem promover mecanismos de proteção específicos nas plantas (FAHAD et al., 2015). Assim, os hormônios relacionados ao estresse das plantas tem um papel importante na mediação das respostas das plantas ao estresse, como por exemplo redução do crescimento, para que a planta possa concentrar seus recursos na resistência ao estresse (KHAN, et al., 2019). Sabe-se que o ácido abscísico (ABA) é o hormônio chave na ativação da adaptação celular da planta ao estresse por seca ou salinidade e tem função como inibidor de crescimento (WEINER et al., 2010).

O estresse salino pode acarretar o acúmulo excessivo de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células vegetais, especialmente o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroxila (OH^{\cdot}), radical hidroperoxila (HO_2^{\cdot}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MØLLER et al., 2007). As EROs são produzidas naturalmente em metabólicos normais nos peroxissomos, mitocôndrias e cloroplastos; no entanto, quando em condições de estresses o equilíbrio entre

a produção de EROs e a atividade antioxidante é rompida, ocorrendo a produção excessiva das EROs, causando danos nas macromoléculas essenciais para o crescimento normal das plantas, como danos oxidativos em proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e membrana plasmática (AHANGER et al., 2017).

As EROs atuam como moléculas sinalizadoras ou mensageiros secundários de estresse, ativando os mecanismos enzimáticos antioxidantes para minimizar os danos. Destacam-se as superóxidos dismutases (SODs), as catalases (CATs), as peroxidases (POD), glutathione redutase (GR) e ascorbato peroxidase (APX) (AHANGER et al., 2017), e compostos não enzimáticos como aminoácidos, proteínas, ácido ascórbico e compostos fenólicos (CAVERZAN et al., 2016).

Esse acúmulo de solutos compatíveis (osmoprotetores) como poliaminas, açúcares, prolina, glicina-betaina e outros aminoácidos, são compostos orgânicos responsáveis pelo balanço osmótico e são compatíveis com o metabolismo celular, promovem o fornecimento de ajuste osmótico, manutenção da estrutura funcional e integridade das membranas, proteínas estabilizadoras de estruturas celulares e eliminação das EROs, sem inibir reações normais bioquímicas (TURKAN, 2011).

As plantas desenvolveram estratégias para minimizar os efeitos das condições de estresses abióticos e vários desses mecanismos estão conectados ao metabolismo dos aminoácidos, pois, em geral, o conteúdo de aminoácidos livres nas plantas aumenta consideravelmente durante diferentes condições de estresse abiótico. Esses aminoácidos são moléculas essenciais no metabolismo, podem atuar como precursores da síntese de proteínas secundárias, metabólitos e moléculas sinalizadoras, como hormônios e moléculas de defesas (BATISTA-SILVA et al., 2018).

Segundo Ali et al. (2019), os aminoácidos desempenham seu papel na tolerância abiótica ao estresse por três mecanismos: como osmólitos compatíveis e atuando na desintoxicação das EROs, regulando o pH ou agindo como reserva de nitrogênio ou carbono. Dentre os aminoácidos, a prolina, juntamente com a glicina betaina, é o aminoácido de maior importância para a indução de tolerância ao estresse por meio de seu metabolismo. Entre suas funções, destacam-se o ajuste osmótico celular para a manutenção do turgor

das células através de seu acúmulo (HAFFANI et al., 2014), manutenção da homeostase de íons sob estresse iônico (KAMYAB et al., 2016), atuação na membrana celular, reduzindo peroxidação lipídica de várias maneiras e, aumenta os níveis de enzimas antioxidantes e compostos não enzimáticos (BUTT et al., 2016).

Cada cultura é afetada diferentemente em relação a salinidade do solo, sendo as plantas classificadas como glicófitas e halófitas. As glicófitas representam as que são menos tolerantes aos sais e que podem sofrer desequilíbrios nutricionais e estresses oxidativos (DEINLEIN et al., 2014). Segundo Ashraf e Harris (2004), os efeitos da salinidade dependem muito de fatores como espécie, cultivo, estágio fenológico, intensidade e duração do estresse, manejo cultura, irrigação e condições edafoclimáticas.

2.2.1 Estresse salino na cultura da soja

O desenvolvimento, crescimento e rendimento da soja resultam da interação entre o potencial genético da cultivar e o ambiente; assim, quando ocorrem mudanças no ambiente, também ocorrem no desenvolvimento da planta (MARQUES et al., 2014).

A soja é considerada uma planta glicófita, com todos os estádios de desenvolvimento afetados negativamente pelo estresse salino e apresentam alto grau de variação na resposta ao sal entre os genótipos (SHELKE et al., 2017). O estresse salino é um dos estresses abióticos que mais afeta o seu desenvolvimento e rendimento, prejudicando significativamente o crescimento, nodulação, características agrônômicas (redução na altura, tamanho de folha, biomassa, número de entrenós, número de ramos, número de vagens, peso por planta e massa de 1000 sementes), qualidade e produtividade da soja (PHANG et al., 2008).

A salinidade causa clorose e necrose nas folhas, causando senescência (SEHRAWAT et al., 2013). Além disso, o estresse salino pode reduzir o teor de proteína presente nas sementes de soja (WAN et al., 2002), reprimindo sua germinação e causando danos pós-germinativos (ZHANG et al., 2016). Essas reduções de crescimento e problemas no desenvolvimento são atribuídas a redução do potencial hídrico do tecido, que indica menor

disponibilidade de água para as células, resultando em fechamento dos estômatos e redução da fotossíntese (GARG e MANCHANDA, 2009).

Todo o ciclo da soja é afetado com a salinidade do solo; porém, o grau de tolerância varia conforme o estágio de desenvolvimento. A ordem de tolerância do sal na fase de germinação das sementes é: embebição, emergência da raiz, crescimento radicular e raízes laterais (SHAO et al., 1994). A germinação é afetada pela inibição da captação de água ou pelo efeito tóxico dos íons no embrião (FAROOQ et al., 2015). A toxicidade ocorre quando íons de Cl^- e Na^+ são absorvidos e acumulados em altas concentrações na planta de soja (CHEN et al., 2008).

Na fase reprodutiva e de enchimento de grãos, a salinidade causa uma redução na quantidade e na massa de grãos (FAROOQ et al., 2017), reduzindo a produtividade da soja de 12 a 100% devido à supressão de atributos morfológicos e respostas fisiológicas (KHAN et al., 2016).

A salinidade reduz a respiração das bactérias fixadoras de nitrogênio; com isso, o conteúdo de leghemoglobina e a fonte de energia necessária para a fixação de nitrogênio, diminuem (DELGADO et al., 1994). Sendo assim, a nodulação da soja é afetada com os níveis de estresse salino, além de reduzir a eficiência da fixação biológica do nitrogênio e diminuir o número e a biomassa dos nódulos radiculares (EL SHEIKH e WOOD, 1995).

2.3.1 MICROALGAS

Técnicas para aumentar a produtividade se tornaram prioridade, tendo em vista a sustentabilidade dos sistemas agrícolas e a coerência com as questões ambientais (MÓGOR et al., 2008). Assim, a busca por alternativas que utilizem produtos naturais e que apresentem efeito promotor no crescimento vegetal tem aumentado (ZHANG et al., 2002). O uso de algas marinhas como fonte de matéria orgânica e fertilizante não é algo novo na agricultura, mas os efeitos dos bioestimulantes têm sido destacados mais recentemente (JARDIN, 2015).

O termo bioestimulante não é reconhecido como uma classe de produtos na legislação brasileira, apesar de ser comumente encontrado nos meios de

comunicação. Moraes e Azevedo (2016) constataram que a maioria dos produtos citados como bioestimulantes também poderiam ser classificados como biofertilizantes; no entanto, em nosso país, alguns produtos citados como bioestimulantes são classificados como reguladores vegetais (MÓGOR et al., 2017), portanto não se enquadrando na classe de biofertilizantes definido na legislação. O conceito de Biofertilizantes está definido nas Instrução Normativa 61 do MAPA (BRASIL, 2020) como:

Produto que contém princípio ativo ou agente orgânico, isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante.

Os biofertilizantes são subdivididos em grupos, onde se encontram os biofertilizante de extratos de algas ou algas processadas, que são produtos obtido por extração e beneficiamento de algas, além de extratos de plantas, substâncias húmicas e aminoácidos livres (BRASIL, 2020). Além dessas fontes, a composição bioquímica de microalgas possibilita seu uso como matéria-prima para desenvolver novos produtos para a melhoria do crescimento das plantas (EL ARROUSSI et al., 2016).

As microalgas são uma alternativa sustentável em potencial para o aprimoramento do cultivo agrícola (GARCIA-GONZALEZ e SOMMERFELD, 2016). São pequenos organismos com alta capacidade fotossintética, foto autotróficos, coloniais ou filamentosos (OLAIZOLA, 2003). Possuem maior teor de proteína (até 70%) e taxa de crescimento do que as macroalgas (dobram sua biomassa entre três e 24 horas). Além de ter uma maior biodiversidade (estima-se que existam entre 20.000 e 800.000 espécies) e facilidade de cultivo, oferecem maior possibilidade de selecionar linhagens para diferentes ambientes e funções (ACIEN et al., 2016).

Esses organismos transformam o dióxido de carbono presente na atmosfera em várias formas de energia, por meio do processo fotossintético. As microalgas são capazes de fazer simbiose com bactérias e são ideais para o tratamento e remoção de resíduos agrícolas (RAMIREZ, 2013). Elas são compostas por material particulado (células) e material dissolvido (mucilagem), que carregam consigo significativas quantidades de carboidratos, polissacarídeos, proteínas, aminoácidos, lipídios e substâncias minerais; sendo

relatado que seu uso na peletização de sementes contribuiu para o processo de germinação (MONTANHIM, 2014).

As microalgas produzem, além de biomoléculas como os lipídios, de grande interesse na indústria da bioenergia, carboidratos, pigmentos, vitaminas e proteínas, tais compostos podem agregar valor à biomassa residual, aumentando as possibilidades de uso desse material (MONTANHIM et al., 2014). A biomassa produzida pode ser utilizada como alimento, combustível, ração animal, produtos farmacêuticos e produção agrícola, devido a sua fonte de biocompostos (FERREIRA et al., 2013). Além disso, devido à sua versatilidade metabólica, as microalgas são consideradas organismos promissores para a produção de vários compostos, incluindo antioxidantes, óleos, proteínas e muitos outros (BOROWITZKA, 2013).

Podem aumentar o conteúdo de antioxidantes das plantas, aprimorar o metabolismo celular e aumentar o teor de corofila das folhas, além de colaborar com a maior absorção de nutrientes, maior acúmulo de biomassa e maior rendimento das culturas com seu uso como biofertilizantes de microalgas (RONGA et al., 2019). O uso de biomassa de microalgas como biofertilizantes tem sido objeto de estudos recentes (MÓGOR et al., 2017). Muitos estudos indicam que as microalgas contém diversas substâncias promotoras de crescimento de plantas (HUSSAIN e HASNAIN 2011), como aminoácidos livres (MÓGOR et al., 2018) e poliaminas (MÓGOR et al., 2017).

Os mecanismos induzidos pelas microalgas nas plantas são muito complexos e ainda não foram completamente compreendidos, muito provavelmente pela interação de várias moléculas e não necessariamente por apenas uma delas, principalmente por possuírem um conjunto moléculas bioativas (BARONE, et al., 2019).

A classe Chlorophyta é compostosta por microalgas verdes unicelulares, encontradas em água doce e marinha, são globulares, não-móviles, solitárias com diâmetro médio de 2 a 10µm e são dependentes da luz para o crescimento autotróficos, Dessa classe fazem parte gêneros como *Scenedesmus*, *Chlorella* e *Asterarcys* sendo estudados por seu alto teor de proteínas e outros compostos de interesse (BARONE et al., 2018; VARHNEYA et al., 2018). Em condições controladas de cultivo *Asterarcys* pode apresentar alto teor de

proteínas, lipídeos, polissacarídeos e pigmentos (VARHNEYA et al., 2018; SINGH et al., 2019).

O uso como biofertilizante pode trazer diversas vantagens para as culturas, devido aos polissacarídeos, que mostram boa capacidade para melhorar o crescimento das plantas (EL ARROUSSI et al., 2016), além de propiciar crescimento vigoroso e maior rendimento, absorção de nutrientes e resistência a estresses bióticos e abióticos (TARRAF et al., 2015). A fertilização a base de aminoácidos fornece as plantas elementos necessários para o desenvolvimento de estruturas, economizando energia metabólica (GARCIA et al., 2012).

Biofertilizantes de algas são usados na agricultura principalmente por serem uma fonte de aminoácidos (PLAZA, et al., 2018). Os aminoácidos podem desempenhar diferentes papéis nas plantas; podem atuar como agentes redutores do estresse, fonte de nitrogênio e precursores hormonais (ZHAO, 2010). O primeiro aminoácido formado é o glutamato, e a partir dele, outros aminoácidos podem ser obtidos por meio da atividade de aminotransferases (TAIZ e ZEIGER, 2013). Estudos mostram que a concentração de diferentes aminoácidos aumenta sob condições estressantes e desempenham seu papel por meio de três mecanismos: atuando como osmólitos compatíveis e, conseqüentemente na desintoxicação das EROs; regulando o pH; ou agindo como reserva de nitrogênio ou carbono (ALI et al., 2020).

Além de serem constituintes de proteínas, os aminoácidos também atuam em diversas reações, influenciando em uma série de processos fisiológicos (HILDEBRANDT et al., 2015). A ação das moléculas de aminoácidos envolve a redução de radicais livres e osmoproteção, principalmente em situações de estresses (GILL e TUTEJA, 2010). A prolina é o principal aminoácido importante para a indução de tolerância ao estresse, através do seu metabolismo, atuando como antioxidante e sinalizadora do estresse (ALI et al., 2020).

Com o aumento das mudanças climáticas, novas tecnologias serão necessárias para aprimorar e proteger as culturas agrícolas; com isso, a aplicação de microalgas nas culturas pode aumentar o desenvolvimento das

plantas e propiciar um sistema de produção mais economicamente viável (GARCIA-GONZALEZ e SOMMERFELD, 2016). Foi relatado que o uso de microalgas beneficia o crescimento das plantas por produzirem moléculas promotoras de crescimento, vitaminas, aminoácidos, polipeptídeos e polímeros como exopolissacarídeos que melhoram o crescimento e a produtividade das plantas (SAFI et al., 2014).

Stirk et al. (2002) relataram a provável ação de hormônios vegetais contidos no extrato da microalga clorófita *Scenedesmus* sp., ao identificarem efeito similar a ação de citocininas em bioensaios com cotilédones de pepino, e de auxinas em bioensaios com calos de soja.

Guzman-Murillo et al. (2013) perceberam redução do estresse por sal no processo de germinação de sementes de pimentão com a aplicação de duas espécies de microalgas, devido à redução na produção de radicais superóxidos. El-Baky et al. (2010) sugeriram que a aplicação de microalgas em trigo em condições de salinidade melhorou a tolerância da cultura e a sua capacidade antioxidante, reafirmando o potencial que a aplicação de microalgas tem de proteção contra estresses em plantas. Rachidi et al. (2020) em estudo com polissacarídeos de três espécies de microalga aplicados por irrigação, verificaram que todos os tratamentos estimularam o crescimento de plantas de tomate, além de aumentarem a concentração de clorofila, carotenoides e proteína. Assim como El Arroussi et al. (2016), que perceberam efeitos positivos dos exopolissacarídeos da microalga *Dunaliella salina* em eliminar os efeitos causados pelas EROs em trigo sob salinidade, aumentando a atividade da POD e SOD.

Em estudo com biomassa hidrolisada de *Arthrospira platensis* revelou-se bioatividade relacionada ao metabolismo das poliaminas. Destacaram a propriedade de promoção de crescimento dos hidrolisados nos estágios iniciais do desenvolvimento e efeitos da aplicação foliar, que resultou em aumento do peso fresco, número de folhas e massa seca das plantas (MÓGOR, et al., 2018). O sistema radicular (comprimento e área de raiz) aumentou significativamente em plantas de beterraba tratadas com doses de microalga *Chlorella* e *Scenedesmus*, e foram relacionados à melhor aquisição de nutrientes, favorecendo o crescimento da planta (BARONE, et al., 2018).

2.3.2 Tratamento de sementes

Para alcançar melhor desenvolvimento e estabelecimento da cultura, o tratamento de sementes é indispensável para potencializar as propriedades biológicas e genéticas, além da qualidade e sanidade das sementes (BAUDET e PESKE, 2007), sendo feito principalmente para controlar fungos de solo e patógenos transmitidos via semente, garantindo eficiência na germinação quando as condições edafoclimáticas forem desfavoráveis (EMBRAPA, 2013). O tratamento de sementes ainda pode garantir plântulas vigorosas, uniformidade inicial do estande e aumento do rendimento da cultura (BEZERRA, 2015).

O estágio de plântula representa uma etapa particularmente sensível, pois é decisivo para a sobrevivência da planta e para distribuição espacial de uma população. Com isso, o tratamento de sementes com determinados produtos pode proporcionar crescimento vigoroso e melhor aproveitamento do seu potencial, sendo esse crescimento caracterizado pelas vantagens proporcionadas pela aplicação de algum ingrediente ativo, conhecido como efeito fitotônico (CASTRO et al., 2008).

Com o aumento da produtividade de grãos no Brasil e o crescimento da qualidade das sementes, tem-se buscado novas soluções, aprimorando as aplicações de diferentes fórmulas de modo que as sementes possam apresentar maior evolução e melhoria no desenvolvimento da cultura (FRANÇA-NETO, 2016). Além de fungicidas, inseticidas e nematicidas, produtos que alteram o crescimento e desenvolvimento vegetal, como reguladores de crescimento vegetal e micronutrientes, podem ser utilizados no tratamento de sementes (BINSFELD et al., 2014).

Em razão da necessidade de utilização de produtos alternativos para a agricultura, visando uma produção mais sustentável (MÓGOR et al., 2008), a aplicação de aminoácidos via semente pode resultar em um melhor desenvolvimento da planta, uma vez que essas moléculas podem atuar como sinalizadores de diversos processos fisiológicos benéficos das plantas (TEIXEIRA et al., 2017). Por outro lado, as investigações de produtos de

microalgas (ricas em aminoácidos) adequados para a produção agrícola continuam em grande parte inexploradas (RONGA et al., 2019).

Segundo Dantas et al. (2012), a aplicação de reguladores de crescimento durante os estádios iniciais de desenvolvimento da planta promove o crescimento da raiz, permite a rápida recuperação após estresses, aumenta a resistência e promove o estabelecimento de plantas de forma rápida e uniforme, que melhoram a absorção de nutrientes e o rendimento.

A aplicação de extrato de alga via semente auxila na expressão do vigor das plantas, permitindo maior comprimento, aumento na massa seca e porcentagem de emergência (MARQUES et al., 2014). Binsfeld et al. (2014) não observaram efeito dos produtos testados sobre a germinação; porém, o complexo de nutrientes, seguido do regulador de crescimento vegetal com efeito bioestimulante, influenciaram positivamente no desempenho inicial de plântulas.

Em investigação com extratos de algas na germinação de sementes, Shukla e Gupta (1967) relataram germinação mais rápida e maior crescimento de plântulas de arroz. Em outros estudos foram obtidos resultados semelhantes, utilizando extrato de algas marinhas em sementes de tomate e trigo, onde foi observado que concentrações crescentes de extratos podem inibir a germinação (KUMAR e SAHOO, 2011; KUMARI et al., 2011; HERNADEZ-HERRERA et al., 2014).

Pesquisas demonstraram que as sementes pré-tratadas com extratos celulares de microalgas têm maior taxa de germinação e crescimento de plantas em comparação ao controle, juntamente com maior teor de carboidratos solúveis, proteínas e aminoácido livres (KUMAR e SAHOO, 2011; HERNANDEZ-HERRERA et al., 2014; IBRAHIM, 2016).

Segundo Barone et al. (2018), os metabólitos ou componentes bioativos durante o tratamento das sementes atuarão como precursores de vias bioquímicas para ajudar nos processos de estabelecimento da plântula. Akgul (2019) verificou aumento na germinação de sementes de trigo e cevada quando tratadas com extrato de microalga *Spirulina*, assim como incremento no sistema radicular, mas percebeu efeito inibidor na maior concentração.

Bumandalai e Tserennadmid (2019) utilizaram microalga clorófita como biofertilizante para germinação de sementes de tomate e pepino e avaliaram o

desenvolvimento inicial, onde verificaram efeito progressivo no crescimento das raízes conforme o aumento da dose da microalga. Assim como Abd Elhafiz et al., (2015), que verificaram aumento da germinação de sementes de arroz, berinjela e pepino com uso de microalga.

REFERÊNCIAS GERAIS

ABASTECIMENTO (CONAB). **Soja**, Safra 2018/2019. Sexto Levantamento, 2019.

ABD ELHAFIZ, A.; ABD ELHAFIZ, A.; GAUR, S. S.; HAMDANY, N.; OSMAN, M.; LAKSHMI, T. V. R. *Chlorella vulgaris* and *Chlorella pyrenoidosa* live cells appear to be promising sustainable biofertilizer to grow rice, lettuce, cucumber and eggplant in the UAE soils. **Recent Research in Science and Technology**, v. 7, p. 14-21, 2015.

ACIEN, F. G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; MOLARES-AMARAL, M. M.; FERNANDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E. Wastewater treatment using microalgae: How realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 9013-9022, 2016.

AHANGER, M. A., TOMAR, N. S., TITTAL, M., ARGAL, S., AGARWAL, R. Plant growth under water/salt stress: ROS production: antioxidants and significance of added potassium under such conditions. **Physiology and Molecular Biology Plants**, v. 23, p. 731–744, 2017.

AHMED, H. E. S.; SAYED, E. Influence of NaCl and NaSO₄ treatments on growth development of broad bean (*Vicia faba* L.) plant. **Journal Life Science**, v.5, p. 513-523, 2011.

AKGUL, F. Effect of Spirulina plantesis geitler extract on seed germination of wheat and barley. **Alinteri Journal of Agriculture Sciences**, v. 34, n. 2, p. 148-153, 2019.

ALI, Q.; ATHAR, H.R.; HAIDER, M. Z.; SHAHID, S.; ASLAM, N.; SHEHZAD, F.; NASEEM, J.; ASHRAF, R.; ALI, A.; HUSSAIN, S. M. Role of Amino Acids on Improving Abiotic Stress Tolerance to Plants. **Plant Tolerance to Environmental Stress**, p. 175-204, 2019.

ALVES, F. L.; PONTE, L. F. A.; FERREIRA-SILVA, S. L.; MAIAS, J. M.; SILVEIRA, J. A. G. Germinação e estabelecimento de plântulas de cajueiro-anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) em função da salinidade. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 197-204, 2013.

ALQARAWI, A. A.; ABD-ALLAH, E.F.; HASHEM, A. Alleviation of salt-induced adverse impact via mycorrhizal fungi in *Ephedra aphylla* Forssk. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, p. 802-810, 2014.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant science**, v.166, p. 3-16, 2004.

BARONE, V.; BAGLIERI, A.; STEVANATO, P.; BROCCANELLO, C.; BERTOLDO, G.; BERTAGGIA, M.; CAGNIN, M.; MOLITERNI, V. M. C.; MANDOLINO, G.; FORNASIER, F.; SQUARTINI, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Root morphological and molecular responses induced by microalgae

extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n.2, 2018.

BARONE, V.; PUGLISI, I.; FRAGALÁ, F.; PIERO, A. R.; GIUFFRIDA, F.; BAGLIERI, A. Novel bioprocess for the cultivation of microalgae in hydroponic growing system of tomato plants. **Journal of Applied Phycology**, v.31, p. 465 – 470, 2019.

BATISTA-SILVA, W.; HEINEMANN, B.; RUGEN, N.; NUNES-NESI, A.; ARAUJO, W. L.; BRAUN, H. P.; HILDEBRANDT, T. M. The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. **Plant Cell Environ**, v. 42, p. 1630-1644, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 61, de 8 de julho de 2020. Estabelece as regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes, destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, out. 2011. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-61-de-8-de-julho-de-2020-266802148>

BAUDET, L.; PESKE, S. T. Aumentando o desempenho das sementes. **Seed News**, v.9, n.5, p. 22-24, 2007.

BERTAGNOLLI, C. M.; CUNHA, C. dos S. M.; MENEZES, S. M. de; MORAES, D. M.; LOPES, N. F.; ABREU, C. M. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de soja submetidas ao estresse salino. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 10, n. 3, p. 287-291, 2004.

BEZERRA, A. R. G.; SILVA, F. C. S.; SILVA, A. F.; ALVARES, C. H. A.; SEDIYAMA, T. Effects of biostimulants and seed treatment with fungicide on the germination and vigor of soybean seedling. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v.8, p.27-35, 2015.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, ed. 2, 445p., 1994.

BINSFELD, J.A; BARBIERI, A.P.P; HUTH, C.; CABRERA, I.C; HENNING, L.M.M. Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.44, n.1, p.88-94, 2014.

BOROWITZKA, M.A. High-value products from microalgae – their development and commercialisation. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, p. 743-756, 2013.

BUMANDALAI, O.; TSERENNADMID, R. Effect of *Chlorella vulgaris* as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds. **International Journal of Aquatic Biology**, v. 7, p. 95-99, 2019.

BUTT, M.; AYYUB, C.M.; AMJAD, M.; AHMAD, R. Proline application enhances growth of chilli by improving physiological and biochemical attributes under salt stress. **The Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53 p. 43-49, 2016.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. In: SHANKER, A. K.; SHANKER, C. **Abiotic and biotic stress in plants- recentes advances and future perspectives**. p. 463-480, 2016.

CASTRO, G. S. A.; BOGIANI, J. C.; SILVA, M. G.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C. A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n. 10, p. 311-318, 2008.

CHEN, H.; CUI, S.; FU, S.; GAI, J.; YU, D. Identification of quantitative trait loci associated with salt tolerance during seedling growth in soybean (*Glycine max* L.), **Australian Journal of Agricultural Research**, v.59, p. 1086-1091, 2008.

DANTAS, A. C. V. L.; QUEIROZ, J. M. O.; VIEIRA, E. L.; ALMEIDA, V. O. Effect of gibberellic acid and the bioestimulant Stimulate® on the initial growth of tamarind. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 34, n. 1, p. 008-014, 2012.

DEINLEIN, U.; STEPHAN, A.B.; HORIE, T.; LUO, W.; XU, G.; SCHROEDER, J. **Plant salt-tolerance mechanisms. Trends Plant Science**, v.19, p. 371-379, 2014.

DELGADO, M.J.; LIGERO, F.; LIUCH, C. Effects of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea, faba-bean, common bean and soybean plant. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.371-376, 1994.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Ed). **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, c. 9, p. 129-141, 2010.

EL-ARROUSSI, H.; EL-MERNISSI, N.; BENHIMA, R.; MEFTAH, E. L.; KADMIRI, I.; BENDAOU, N.; SMOUNI, A.; WAHBY, I. Microalgae polysaccharides a promising plant growth biostimulant. **Journal of Algal Biomass**, v. 7, p.55-63, 2016.

EL-ARROUSSI, H.; ELBAOUCHI, A.; BENHIMA, R.; BENDOU, N.; SMOUNI, A.; WAHBY, I. Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. under salt stress. **Acta Horticulturae**, 2018.

EL-BAKY, H. H.; EL-BAZ, F. K.; EL-BAROTY, G. S. Enhancing antioxidant availability in wheat grains from plants grown under seawater stress in response to microalgae extract treatments. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 299-303, 2010.

EL-SHEIKH, E. A. E.; WOOD, M. Nodulation and N₂ fixation by soybean inoculated with salt-tolerant rhizobia or salt-sensitive bradyrhizobia in saline soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.657-661, 1995.

EMBRAPA. **Dados econômicos da soja**. Brasília, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acessado em 12 de mar. 2020.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil**, Londrina: Embrapa Soja, 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/95489/1/SP-16-online.pdf>. Acessado em 23 de abr. 2020

FAHAD, S., HUSSAIN, S., MATLOOB, A., KHAN, F. A., KHALIQ, A., SAUD, S. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. **Plant Growth Regulation**, v. 75, p. 391-404, 2015.

FAO. **Status of the world's soil resources**, 2015.

FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; WAKEEL, A.; SIDDIQUE, K. H. M. Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms and management, a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p.461-481, 2015.

FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, p. 81-102, 2017.

FERREIRA, S. P.; SOUZA-SOARES, Leonor de; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 275-287, 2013.

FRANÇA-NETO, J. Evolução do conceito da qualidade das sementes. **Seed News**, v. 1, n. 1, p.1-1, 2016.

GARCIA-GONZALES, J.; SOMMERFELD, M. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*, **Journal of Applied Phycology**, v.28, p. 1051-1061, 2016.

GARCÍA, J. M. R.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; SEVILLA, J. M. F. Development of a process for the production of L-amino acids concentrates from microalgae by enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 164-170, 2012.

GARG, N.; MANCHANDA, G. ROS Generation in Plants: Boon or Bane? **Plant Biosystems**, v. 143, p. 8-96, 2009.

GILL, S. S.; TUJETA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p. 909-930, 2010.

GREGORY, P. J., ISMAIL, S., RAZAQ, I. B., WAHBI, A. Soil salinity: current status and in-depth analyses for sustainable use. **International Atomic Energy Agency**, c. 2, 2018.

GUZMAN-MURILLO, M. A.; ASCENCIO, F.; LARRINAGA-MAYORA, J. A. Germination and ROS detoxification in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under NaCl stress and treatment with microalgae extracts. **Protoplasma**, v.250, p.33-42, 2013.

HAFFANI, S.; MENZI, M.; SLAMA, I.; KSONTINI, M. Plant growth, water relations and proline content of three vetch species under water-limited conditions. **Grass and Forage Science**, v. 69, p. 323-333, 2014.

HERMES, E. C. K.; NUNES, J.; NUNES, J. V. D. Influência do bioestimulante no enraizamento da soja. **Revista Cultivando o Saber**, p.35-45, 2015.

HERNANDEZ-HERRERA, R. M.; SANTACRUZ-RUVACABA, F.; RUIZ-LOPEZ, M. A. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Applied Phycology**, v.26, p.619-628, 2014.

HILDEBRANDT, T. M.; NESI, A. N.; ARAUJO, W.; BRAUN, H. P. Amino Acids Catabolism in Plants. **Molecular Plant**, v.8, p. 1563-1579, 2015.

HIRAKURI, M. H. LAZZAROTTO, J. J. O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina - PR: **Embrapa Soja**, p.70, 2014.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v.39, p.88-93, 2003.

HOLANDA FILHO, R. S. F. et al. Água salina nos atributos químicos do solo e no estado nutricional da mandioqueira. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 1, p. 60-66, 2011.

HUSSAIN, A.; HASNAIN, S. Phytostimulation and biofertilization in wheat by cyanobacteria. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, p. 85-92, 2011.

IBRAHIM, W. M. Potential impact of marine algal extracts on the growth and metabolic activities of salinity stresses wheat seedling. **Journal of Applied Science**, v. 16, p. 388-394, 2016.

JARDIN, P. Du; Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.

KAMYAB, H.; DIN, M. F. M.; PONRAJ, M.; KEYVANFAR, A., REZANIA, S; TAIB, S. M.; MAJID, M. Z. A. Isolation and screening of microalgae from agro-industrial wastewater for biomass and biodiesel sources. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 60, p. 29118-29125, 2016.

KHAN, A.; KHAN, A.L.; MUNEER, S.; KIM, Y-H.; AL-RAWAHI; AL-HARRASI, A. Silicon and Salinity: Crosstalk in Crop-Mediated Stress Tolerance Mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019.

KHAN, H.A.; SIDDIQUE, K.H.M.; COLMER, T.D. Salt sensitivity in chickpea is determined by sodium toxicity. **Planta**, v. 244, p. 623-637, 2016.

KUMAR, G.; SAHOO, D. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 251-255, 2011.

KUMARI, R.; KAUR, I.; BHATNAGAR, A. K. Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & gardner on growth, yield and quality of

Lycopersicon esculentum Mill. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 623-633, 2011.

LIMA, I. P.; BRUZI, A. T.; BOTELHO, F. B. S.; ZAMBIAZZI, E. V.; SOARES, I. O.; ZUFFO, A. M. Performance of Conventional and Transgenic Soybean Cultivars in the South and Alto Paranaíba Regions of Minas Gerais, Brazil. **American Journal Plant Science**, v. 6, p. 1385-1390, 2015.

MACHADO, L. **Inoculação de sementes de soja** – um fator determinante no sucesso da lavoura. Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes. Lavras, 2013. Entrevista.

MARQUES, E. C.; FREITAS, V. S.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.4, p.993-999, 2011.

MARQUES, M. E. R.; SIMONETTI, A. P. M.; ROSA, H. A. Aspectos produtivos do uso de bioestimulantes na cultura da soja. **Acta Iguazu**, v.3, n.4, p.155-163, 2014.

MÓGOR, A. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; MÓGOR, G. Aplicação foliar de extrato de alga, ácido L- glutâmico e cálcio em feijoeiro. **Scientia Agrária**. v.9, p.431-437, 2008.

MÓGOR, A. M. Interfaces entre legislação, pesquisa científica e mercado de bioestimulantes. **Anais do I Simpósio Latino-americano sobre Bioestimulantes na Agricultura**, v. 01, p. 24-27. 2017. Disponível em: <http://www.bioestimulantes.ufsc.br/files/2017/11/Anais-I-Simp%C3%B3sio-Latino-Americano-sobre-Bioestimulantes-na-Agricultura-SLABA-2017.pdf>. Acesso em: 29 de junho de 2019.

MÓGOR, A. F.; AMATUSSI, J. O.; MÓGOR, G.; LARA, G. B. Bioactivity of cyanobacterial biomass related to amino acids induces growth and metabolic changes on seedlings and yield gains of organic red beet. **American Journal of Plant Science**, v. 9, p. 966–978, 2018.

MÓGOR, A. F.; ÖRDÖG, V.; LIMA, G. P. P.; MOLNÁR, Z.; MÓGOR, G. Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 453–460, 2017.

MONTANHIM, G. C. Uso de biomassa de algas para a peletização de sementes de *Bowdichia virgilioides* Kunth. **Revista Árvore**, v. 38, n. 5, p. 867-877, 2014.

MORAES, J.; AZEVEDO, P. Biostimulants: identification of regulatory challenges and proposals to make this agri-input viable in Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 1148, p.101-104, 2016.

MUNIZ, F.R.; CARDOSO, M.G.; VON PINHO, E.V.R.; VILELA, M. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p.195-204, 2007.

MØLLER, I.M.; JENSEN, P.E. & HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.

NEGRÃO, S. SCHMÖCKEL, S. M, TESTER, M. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. **Annals of Botany**, v. 119, p. 1-11, 2016.

NUNES, J. L. da S. **Características da Soja (*Glycine max*)**. Agrolink, 2016.

OLAIZOLA, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. **Biomolecular Engineering**, v. 20, p. 459-466, 2003.

PAK, V. A.; NABIPOUR, M.; MESKARBASHEE, M. Effect of salt stress on chlorophyll content, fluorescence, Na⁺ and K⁺ ions content in rape plants (*Brassica napus* L.). **Asian Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 2, p. 28-37, 2009.

PHANG, T.; SHAO, G.; LAM, H. Salt tolerance in soybean. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.50, p.1196–1212, 2008.

PESSOA, L.G.M.; OLIVEIRA, E.E.M.; FREIRE, M.B.G. DOS S.; FREIRE, F.J.M.; MIRANDA, A. E SANTOS, R.L. DOS. Composição química e salinidade do lixiviado em dois solos cultivados com cebola irrigada com água salina. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 406-412, 2010.

PLAZA, B.M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; JIMENEZ-BECKER, S. Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on *Petunia x hybrida* growth **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 2359-2365, 2018.

RACHIDI, F.; BENHIMA, R.; SBABOU, L.; EL ARROUSSI, H. Microalgae polysaccharides bio-stimulating effect on tomato plants: growth and metabolic distribution. **Biotechnology Reports**, v. 25, 2020.

RAHIMI, V.; BANDANI, A.R. Comparison of the effects of cereal and legume proteinaceous seed extracts on α -amylase activity and development of the Sunn pest. **Journal of Asia Pacific Entomology**, v. 17, n. 1, p. 7-11. 2014.

RAMIREZ, N. N. V. **Estudo do crescimento da microalga *Scenedesmus* sp. Em vinhaça**. 2013, 87 f. Dissertacao - Departamento de Engenharia Química, Univerdidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), 2013. Disponível

em:<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/105064/000938416.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em mar. 2020.

REHMAN, S., ABBAS, G., SHAHID, M., SAQIB, M., FAROOQ, A. B. U., HUSSAIN, M. Effect of salinity on cadmium tolerance, ionic homeostasis and oxidative stress responses in conocarpus exposed to cadmium stress: Implications for phytoremediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 171, p. 146–153, 2019.

ROY, S.J.; NEGRAO, S.; TESTER, M. Salt resistant crop plant. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115-124, 2014.

RONGA, D.; BIAZZI, E.; PARATI, K.; CARMINATI, D.; CARMINATI, E.; TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilizers in crop productions. **Agronomy**, v.9, p. 192-214, 2019.

SAFI, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P.; VACA-GARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Cllorella vulgaris*: A review. **Renewble and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265-278, 2014.

SALES, M. A. de L.; MOREIRA, F. J. C.; RIBEIRO, A. A.; MONTEIRO, R. N. F. Potential of pumpkin seeds under different soaking periods. **Revista Brasileira de Biosistemas**, v. 9, p. 289-297, 2015.

SEHRAWAT, N.; BHAT, K.V.; SAIRAM, R.K.; TOMOOKA, N.; KAGA, A.; SHU, Y.; JAIWAL, P. K. Diversity analysis and confirmation of intra-specific hybrids for salt tolerance in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **International Journal of Integrevite Biology**, v. 14, p. 65-73, 2013.

SHAHID, S. A.; ZAMAN, M.; HENG, L. Soil salinity: historical perspectives and a world overview of the problem. In: **Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques**, Springer, Cham, p. 43–53, 2018.

SHRIVASTAVA, P., KUMAR, R. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal Biological Sciences**, v. 22, p. 123–131, 2015.

SHAO, G.H.; WAN, C.W.; LI, S.F. Preliminary study on the physiology of soybean tolerance to salt stress at germinating stage. **Crops**, v. 6, p. 25- 27, 1994.

SHELKE, D. B.; PANDEY, M.; NIKALJE, G. C.; ZAWARE, B. N.; SUPRASANNA, P.; NIKAM, T.D. Salt responsive physiological, photosynthetic and biochemical attributes at early seedling stage for screening soybean genotypes. **Plant Physiologic and Biochemistry**, v. 188, p. 519-528, 2017.

SHUKLA, A. C.; GUPTA, A. B. Agriculture: influnce of algal growth-promoting substances on growth, yield and protein contests of rica plants. **Nature**, 477p., 1967.

SILVA, J. L. A. et al. Evolução da salinidade em solos representativos do Agropólo Mossoró-Assu cultivado com meloeiro com água de deferentes salinidades. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.7, n.4, p.26-31, 2011.

SINGH, D.P.; KHATTAR, J.S.; RAJPUT, A.; CHAUDHARY, R.; SINGH, R. High production of carotenoids by the green microalga *Asterarcys quadricellulare* PUMCC 5.1.1 under optimized culture conditions. **PLoS ONE** v.14, n.9, 2019.

STIRK, W. A.; ORDOG, V.; STADEN, J. V.; JAGER, K. Cytokinin and auxin like activity in Cyanophyta and microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 14, p. 215-221, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed., Artmed, 918 p., 2013.

TARRAF, S.; TALAAT, I. M.; EL-SAYED, A. E. K.; BALBAA, L. K. Influence of foliar application of algae extract and amino acids mixture on fenugreek plantd in sandy and clay soils. **NusantBiosci**, v. 7, p. 33-37, 2015.

TEIXEIRA, W. F.; FARGAN, E. B.; SOARES, L. H.; UMBURANAS, R. C.; RELCHARDT, K.; NETO, D. D. Foliar and Seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, article 327, 2017.

TURKAN, I. Plant responses to drought and salinity stress: developments in a post-genomic era. **Academic Press**, 2011.

VARHNEYA, P.; BEARDALLE, J.; BHATTACHARYAF, S.; WANGIKARB, P.P. Isolation and biochemical characterisation of two thermophilic green algal species- *Asterarcys quadricellulare* and *Chlorella sorokiniana*, which are tolerant to high levels of carbon dioxide and nitric oxide. **Algal Research**, v. 30, p. 28–37, 2018.

ZHAO, Y. Auxin biosynthesis and its role in plant development. **Annual Review of Plant Biology** v. 61, p. 49–64, 2010.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R. E.; ERVIN, E. H.; DOAK, S. Creeping bentgrass physiological responses to natural plant growth regulators and iron under two regimes. **HortScience**, v.37, p. 898-902, 2002.

ZHANG, J.; YANG, D.; LI, M.; SHI, L. Metabolic profiles reveal changes in wild and cultivated soybean seedling leaves under salt stress. **Plos One**, v.11, 17 p., 2016.

WAN, C.; SHAO, G.; CHEN, Y.; YAN, S. Relationship between salt tolerance and chemical quality of soybean under salt stress. **Chinese Journal of Oil Crop Sciences**, v. 24, p. 67-72, 2002.

WARAICH, E. A. Water stress and nitrogen management effects on gas exchange, water relations, and water use efficiency in wheat. **Journal of Plant Nutrition**, v. 34, n. 12, p. 1867-1882, 2011.

WEINER, J.; PETERSON, F. C.; VOLKMAN, B. F.; CUTLER, S. R.; Structural and functional insights into core ABA signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p.495-502, 2010.

3. CAPÍTULO I – APLICAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGA EM SEMENTES DE SOJA PARA MITIGAÇÃO DO ESTRESSE SALINO

RESUMO

As microalgas apresentam metabólitos que proporcionam benefícios para as plantas, devido seu efeito estimulante e capacidade antioxidante. A condição de salinidade no solo para a cultura da soja causa danos às sementes e ao metabolismo, com redução na germinação e crescimento das plântulas, além de efeitos negativos na nodulação e no desenvolvimento geral da planta. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* como fonte de aminoácidos livres, aplicada às sementes em mistura com inocunlate de *Bradyrhizobium japonicum*, na germinação, no crescimento de plântulas e no desenvolvimento das plantas, em condições de salinidade, bem como determinar a dose ideal da biomassa da microalga para ser utilizada na aplicação em sementes de soja. Foram realizados dois experimentos, ambos com duas cultivares de soja (Lança e Zeus). Inicialmente a bioatividade da biomassa da microalga foi identificada por meio de bioensaio, promovendo o aumento do volume de hipocótilos de plântulas de tomate. O primeiro experimento foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal do Paraná, a fim de determinar as concentrações críticas de NaCl e as melhores doses da biomassa, que foram utilizadas no segundo experimento, realizado em casa de vegetação, no Laboratório de Biofertilizantes da Fazenda Experimental Canguiri, Pinhais-PR. Assim, em condições controladas, testaram-se diferentes níveis de salinidade (zero, 40, 60 e 80 mmol L⁻¹ de NaCl) e concentrações da biomassa da microalga (1; 1,5; 2,0 e 2,5 mg L⁻¹, além do controle com aplicação apenas de inoculante), verificando-se que a germinação e o desenvolvimento das plântulas foram afetados negativamente pela salinidade a partir de 60 mmol L⁻¹ de NaCl, e a aplicação da biomassa de *A. quadricellulare* na dose 1,5 e 2,5 mg L⁻¹ mitigaram os efeitos da salinidade. Portanto, para o segundo experimento, em casa de vegetação, foram selecionadas as doses de *A. quadricellulare* de 1,5 e 2,5 mg L⁻¹ em mistura com inocunlate de *Bradyrhizobium japonicum*, além do controle apenas com inoculnte, e para promover a salinidade, foram utilizadas as concentrações de 60 e 80 mmol L⁻¹ de NaCl, além do controle sem adição de de NaCl. Em casa de vegetação, o uso de biomassa da microalga foi eficaz para mitigar danos no desenvolvimento das plantas de soja, colaborando para o aumento da altura das plantas, área foliar e diâmetro dos nódulos em condições salinas e no aumento do número de nódulos sem imposição de salinidade, sendo eficientes as doses de 1,5 e 2,5 mg L⁻¹. As análises bioquímicas do material vegetal indicaram que os aminoácidos presentes na biomassa de *A. quadricellulare* aumentaram o conteúdo de aminoácidos livres totais, prolina, proteínas e atividade das enzimas antioxidantes nas plantas de soja, sendo esses compostos, importantes para mitigar os danos do estresse salino. Sendo assim, considera-se eficiente o uso da microalga *A. quadricellulare* como fonte de aminoácidos livres para biofertilizantes na mitigação do estresse salino em soja.

Palavras-chave: Glycine max, Asterarcys quadricellulare, salinidade, germinação

TREATMENT OF SOYBEAN SEEDS WITH MICROALGAE BIOMASS FOR MITIGATION OF SALINE STRESS

ABSTRACT

Microalgae are source of important stimulating metabolites, such as amino acids and polysaccharides, which provide benefits to plants, due to their bioactivity and antioxidant capacity. The soil salinity for soybean crops is damaging affecting seeds and metabolism, such as reduced germination and initial seedling growth, in addition to negative effects on nodulation and overall plant development. In this sense, the aim of this work was to evaluate the effect of the biomass of *Asterarcys quadricellulare* microalgae as a source of free amino acids applied to seeds mixed to *Bradyrhizobium japonicum* inoculant, in germination, seedling growth and plant development, under salinity conditions, as well to determine the more efficient dose of microalgae biomass. Two experiments were carried out, both with two soybean cultivars (Lança and Zeus). Initially, the bioactivity of the biomass was identified by tomato hypocotyl growth bioassay. The first experiment was carried out at the Seed Analysis Laboratory of the Federal University of Paraná, in order to determine as critical NaCl concentration. The best doses of biomass were used in the second experiment, carried out in greenhouse, at the Biofertilizer Laboratory of Fazenda Experimental Canguiri, Pinhais-PR. Thus, under controlled conditions, different levels of salinity (40, 60 and 80 mmol L⁻¹ of NaCl, plus control) and biomass concentrations of the microalgae (1.0; 1.5; 2.0 and 2.5 mg L⁻¹, plus control with inoculant only) were tested. It was found that germination and seedling development were negatively affected by salinity from 60 mmol L⁻¹ of NaCl, and the application of microalgae to seeds at doses 1.5 and 2.5 mg L⁻¹ were efficient to mitigate the effects of salinity. Therefore, for the second experiment, in pots at greenhouse, the doses of *A. quadricellulare* were: 1.5 and 2.5 mg L⁻¹ plus control with inoculant only, and to promote salinity were used 60 and 80 mmol L⁻¹ of NaCl, plus control. Were achieved that the use of *A. quadricellulare* was effective in mitigating the damage in the development of soybean plants, contributing to the increase of plant length, leaf area and nodules diameter under saline conditions and also stimulating nodulation without salinity. The content of free amino acids present in the *A. quadricellulare* biomass can be related to the increases in content of total free amino acids in leaves and roots, proline content and on the activity of antioxidant enzymes in soybean plants. Since these metabolites are important to mitigate the damage caused by salt stress, the use of microalgae biomass as a free amino acid source to biofertilizer for the mitigation of salt stress in soybeans was considered efficient.

Keywords: Glycine max, *Asterarcys quadricellulare*, salinity, germination

3.1 INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos estresses abióticos limitantes para o crescimento e a produtividade agrícola em todo o mundo, devido a formação excessiva das espécies reativas de oxigênio (EROs), causando danos oxidativos, com reflexos negativos na germinação de sementes e alteração no metabolismo, induzindo às mudanças anatômicas, morfológicas e bioquímicas nas plantas (SALES et al., 2015).

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é o principal grão oleaginoso produzido e consumido mundialmente. Porém, é considerada uma planta glicófita, ou seja, sensível aos sais, com todos os estádios de desenvolvimento afetados negativamente pelo estresse salino. A salinidade reduz a respiração das bactérias fixadoras de nitrogênio; sendo assim, a nodulação da soja também é afetada (ELSHEIKH e WOOD, 1995).

As microalgas são uma alternativa sustentável para a promoção de crescimento e a proteção das culturas agrícolas (GARCIA-GONZALEZ e SOMMERFELD, 2016). O uso de biomassa de microalgas como biofertilizantes tem sido objeto de estudos recentes (MÓGOR et al., 2017), por propiciar crescimento vigoroso e maior rendimento, absorção de nutrientes e resistência a estresses bióticos e abióticos (TARRAF et al., 2015), devido a sua capacidade antioxidante e o alto teor de aminoácidos na sua biomassa (BOROWITZKA, 2013).

Dentre as classes de microalgas, Chlorophyta é composta por microalgas verdes unicelulares, encontradas em água doce e marinha, sendo dependentes da luz para o crescimento autotrófico. Dessa classe fazem parte gêneros como *Scenedesmus*, *Chlorella* e *Asterarcys*, apresentando inúmeros compostos de interesse (BARONE et al., 2018; VARHNEYA et al., 2018). Em condições controladas de cultivo *Asterarcys* pode apresentar alto teor de proteínas, lipídeos, polissacarídeos e pigmentos (VARHNEYA et al., 2018; SINGH et al., 2019).

Pesquisas demonstraram que as sementes pré-tratadas com microalgas têm maior taxa de germinação e crescimento das plantas em comparação ao controle, juntamente com aumento dos teores de carboidratos solúveis, proteínas e aminoácidos livres (KUMAR e SAHOO, 2011; HERNANDEZ-

HERRERA et al., 2014; IBRAHIM, 2016). Segundo Barone et al. (2018), os metabólitos ou componentes bioativos das microalgas durante o tratamento das sementes atuarão como precursores de vias bioquímicas contribuindo nos processos de estabelecimento das plântulas. Guzman-Murillo et al. (2013) observaram a redução do efeito do estresse salino na germinação de sementes de pimentão com a aplicação de duas espécies de microalgas, devido à redução da ação danosa das espécies reativas de oxigênio (EROs). El-Baky et al. (2010) verificaram que a aplicação de microalgas em trigo em condições de salinidade melhorou a tolerância da cultura e a sua capacidade antioxidante, reafirmando o potencial que a aplicação de microalgas tem na proteção contra estresses abióticos em plantas.

Portanto, o objetivo nesse trabalho foi utilizar a biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* como fonte de aminoácidos livres, para mitigar os efeitos causados pelo estresse salino na germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas de soja, sendo a biomassa aplicada às sementes em mistura com inoculante de *Bradyrhizobium japonicum*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A biomassa de microalga *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) fornecida pela empresa Alltech® Crop Sciences – Brasil, foi produzida em cultivo do tipo mixotrófico e seca por atomização (Spray dryer), obtendo-se um pó fino de cor esverdeada. A concentração de aminoácidos livres totais na biomassa foi de 90,94 mg g⁻¹, correspondendo a 9 % de aminoácidos livres em peso, determinada usando 0,2 mg da biomassa seca diluída em 1,7 mL de etanol a 80% para preparar um extrato do qual 1,0 mL foi diluído em água destilada e deionizada (WINTERS et al., 2002), sendo então realizada a reação colorimétrica.

3.2.1 Bioensaio

Para identificar a bioatividade da biomassa da microalga obtida como descrito acima, utilizou-se a técnica de bioensaios. De acordo com Mógor et al. (2017), a técnica de bioensaios relaciona a expansão de partes específicas de

plantas modelo em condições controladas, como raízes, hipocótilos e cotilédones, aos efeitos de substâncias sintéticas ou naturais.

O bioensaio foi realizado de acordo com Fellner et al. (2001) com modificações. Sementes de tomate (*Solanum lycopersicum* L., Cultivar Santa Clara) foram distribuídas em caixas gerbox, forradas com papeis de filtro embebidos em soluções com as concentrações de 0,0; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg L⁻¹ da biomassa da microalga, com quatro repetições. As caixas foram acondicionadas em câmara vertical B.O.D., em fotoperíodo de 12h (intensidade fluxo de fótons: 0.52–0.56 mmol/m²/sec), a 22 ± 1 ° C. Após 10 dias, o volume dos hipocótilos (cm³) foi determinado usando o programa computacional WinRhizo® e Scanner LA1600 (Regent Instruments Inc., Cidade de Quebec, Canadá).

3.2.2 Experimento 1

Foi realizado no Laboratório de Análise e Tecnologia de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba.

Os experimentos foram realizados utilizando-se amostras de sementes de duas cultivares de soja: Lança (58I60RSF IPRO) e Zeus (55I57RSF IPRO).

As sementes foram tratadas com biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare*, empregando-se as doses de 1; 1,5; 2,0 e 2,5 mg L⁻¹ e controle. Essas concentrações foram diluídas em 10 mL de inoculante comercial para soja (TotalNitro Full®) com bactérias de *Bradyrhizobium japonicum*, formando uma solução homogênea. No controle foi utilizado apenas o inoculante. As sementes foram agitadas com as soluções dentro de sacos plásticos durante dois minutos, para melhor homogeneização (BALDO et al., 2009).

As soluções de NaCl empregadas foram: zero, 40, 60 e 80 mmol L⁻¹ diluídos em água, correspondendo, respectivamente, às condutividades elétricas (CE) de 4,0; 5,8; 7,2 e 9,1 dS.m⁻¹.

Foi realizado o teste de germinação das sementes, conduzido com quatro repetições de 50 sementes cada por tratamento, previamente tratadas com o controle e as soluções contendo biomassa de *A. quadricellulare*, colocadas para germinar em rolos de papel toalha umedecidos com diferentes concentrações de NaCl, sendo posteriormente levados ao germinador, a

temperatura constante de 25°C, conforme as Regras para Análises de Sementes para a cultura da soja (BRASIL, 2009).

Após cinco dias da instalação do teste, foi contabilizada a porcentagem de plântulas normais, conforme os critérios das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Também foram avaliados o comprimento da parte aérea e das raízes (cm) e o volume radicular (cm³) por meio de *Scanner* com o *software* WinRhizo® (Regent Instruments, Canadá). A determinação da massa seca das raízes e da parte aérea (g), foi realizada em estufa à 65°C até obtenção de peso constante (72 horas).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x4x2 (doses da biomassa x salinidades x cultivares).

3.2.3 Experimento 2

A partir dos dados obtidos no primeiro experimento, foram selecionadas as seguintes doses da biomassa da microalga: 1,5 e 2,5 mg L⁻¹, diluídas em 10 mL de inoculante comercial para soja (TotalNitro Full®) com bactérias de *Bradyrhizobium japonicum*, além do controle apenas com inoculante. Para promover a salinidade, foram utilizadas as concentrações de zero; 60 e 80 mmol L⁻¹ de NaCl, com as condutividades elétricas de 7,2 e 9,1 dS.m⁻¹ nos tratamentos com NaCl, respectivamente.

Este experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente ao Laboratório de Biofertilizantes da Fazenda Experimental Canguiri- UFPR, Pinhais-PR. Os experimentos foram conduzidos em vasos de 3,0 L com substrato (50% Provaso® e 50% Tropstrato®), cuja análise química identificou os seguintes valores: pH (CaCl₂) = 6,6; pH SMP= 7,1; Al³⁺ = 0; H⁺ +Al³⁺= 2,16 cmolc dm³; Ca²⁺= 12,4 cmolc dm³; Mg²⁺= 3,59 cmolc dm³; K⁺= 1,95 cmolc dm³; P= 163,7 mg dm³; V%= 89,3 e CTC= 20,17 cmolc dm³; Cu= 1,8 mg dm³; Mn= 30,40 mg dm³; Fe=65,91 mg dm³; Zn= 4,80 mg dm³; M.O=60,7 g dm³.

A salinização dos vasos foi realizada por meio de irrigação manual, com as soluções salinas aferidas por condutivímetro. A necessidade de irrigação foi definida de acordo com capacidade de retenção de água do substrato, determinada com os vasos sendo irrigados a 100% da sua capacidade, até o escoamento e aferindo-se seu peso. Em seguida, o substrato saturado foi levado para estufa de circulação de ar forçada até a retirada total da umidade,

alcançando peso constante e aferido. A capacidade de retenção de água foi determinada pela diferença dos pesos saturado e seco, realizando-se a pesagem diária dos vasos para a reposição da evapotranspiração, a fim de manter a umidade sempre em 80% da capacidade de retenção de água.

Inicialmente, foram semeadas quatro sementes por vaso, das mesmas cultivares utilizadas no experimento anterior, previamente tratadas como descrito anteriormente, utilizando quatro repetições por tratamento, totalizando 72 vasos. Quinze dias após a semeadura foram mantidas apenas duas plantas por vaso.

O experimento foi encerrado com a coleta das plantas para determinações biométricas e bioquímicas aos 35 dias após a semeadura, quando estas se encontravam no estágio V4 (FEHR e CAVINESS, 1977).

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3x3 (doses da biomassa x salinidades x cultivares) com quatro repetições.

3.2.3.1 Avaliações biométricas

Coletaram-se nódulos de todas as plantas do experimento para sua quantificação e determinação do seu volume (cm³) e diâmetro (cm), bem como foram avaliados o comprimento das raízes (cm), volume radicular (cm³) e área foliar (cm²) analisados em *Scanner* e *software* WinRhizo®. O comprimento da parte aérea (cm) foi determinado, assim como a massa fresca da parte aérea e das raízes (g) aferidas em balança de precisão e, realizado a secagem do material vegetal em estufa à 65°C até a obtenção de peso constante para determinação das massas secas (g).

3.2.3.2 Análises bioquímicas dos tecidos vegetais

Utilizaram-se quatro plantas de cada tratamento, sendo coletadas as folhas do terço médio, no período da manhã. O material foi rapidamente congelado, armazenados em papel alumínio. A extração do material vegetal coletado foi realizada por meio de trituração com nitrogênio líquido. As determinações subsequentes foram realizadas em triplicata.

Determinação de aminoácidos livres totais

Os aminoácidos livres totais foram extraídos segundo Winters et al. (2002) e a reação colorimétrica foi realizada segundo Magné e Larher (1992). A curva padrão foi feita com glutamina e asparagina a 2 mM com valores entre 28 e 140 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 570 nm. Os resultados foram expressos em μg de aminoácidos livres totais por g de material vegetal fresco.

Determinação dos teores de proteínas solúveis totais

Para a extração das proteínas solúveis foram utilizados 50 μL de extrato enzimático. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm (BRADFORD, 1976). A curva padrão foi feita com albumina soro bovina (BSA) a 0,2 % (p/v). Os dados finais foram expressos em μg de proteínas solúveis totais por g de material vegetal fresco e foram utilizados nos cálculos da Catalase, Peroxidase e Superóxido Dismutase.

Determinação de prolina

O teor de prolina foi determinado utilizando-se o método de Bates et al. (1973), com ácido sulfosalicílico 3%, solução de ninhidrina 1% e tolueno. Após banho-maria fervente por 60 min foi realizada a leitura da reação em espectrofotômetro a 520 nm. Como referência, utilizou-se reta padrão com prolina. Os resultados foram expressos em μg prolina por g de material vegetal fresco.

Determinação de clorofilas e carotenoides

No 34° dia após a semeadura, foi determinado o índice relativo de clorofila nas folhas totalmente expandidas, por meio de medidor manual N-Tester (MÓGOR et al., 2013).

Para a determinação dos teores, a extração dos pigmentos foi realizada segundo Lichtenthaler (1987). Em microtubo foi adicionado 0,3 g material vegetal macerado e 1,7 mL de acetona 80% em H_2O destilada com 0,1% CaCO_3 (p/v) (POMPELLI et al. 2013). Após centrifugação (9335 g por 2 segundos) o sobrenadante foi utilizado para as leituras em espectrofotômetro a 663, 647 e 470 nm. Foram utilizadas as fórmulas descritas por Lichtenthaler e

Buschmann (2001) e os valores expressos em μg de clorofila por g de material vegetal fresco.

Determinação de açúcares totais

A extração dos açúcares totais foi realizada segundo Maldonado et al. (2013). As amostras foram obtidas por hidrólise ácida e posterior reação com DNS. A curva padrão para açúcares totais foi feita com glicose a 1 mg mL^{-1} ($5,5 \text{ mM}$) com valores entre 50 a $800 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm . Os valores foram expressos em μg de açúcares por g material vegetal fresco.

Determinação de DPPH

A atividade sequestrante do radical DPPH (1,1-difenil- 2-picrilidrazil) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams e Berset (1995). Para avaliação da atividade antioxidante foram utilizados $50 \text{ } \mu\text{L}$ de amostra e $1950 \text{ } \mu\text{L}$ da solução de DPPH ($100 \text{ } \mu\text{M}$). A redução do radical do DPPH foi medida através da leitura da absorbância (abs) a 517 nm em 40 min de reação. A atividade antioxidante foi expressa de acordo com a equação $\% \text{ AA} = 100 - ((\text{abs amostra} - \text{abs branco}) / \text{abs amostra}) \times 100$

Determinação da Atividade da Catalase (CAT)

Para a determinação da atividade da CAT, o sistema de reação por 40 segundos, foi composto de $50 \text{ } \mu\text{L}$ de extrato enzimático, tampão fosfato de sódio $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ pH $7,0$ e H_2O_2 $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$. Após leituras de absorbância a 240 nm , utilizou-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 ($39,4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A atividade da enzima foi expressa em $\text{nmol de H}_2\text{O}_2 \text{ consumido.min}^{-1}.\text{mg}^{-1} \text{ proteína}$.

Determinação da Atividade da Peroxidase (POD)

A atividade da POD foi determinada de acordo com Teisseire & Guy (2000). O sistema de reação foi composto de 30 uL de extrato enzimático diluído ($1:10$ em tampão de extração); tampão fosfato de potássio 50 mmol L^{-1} pH $6,5$; pirogalol (1,2,3-benzenotriol) 20 mmol L^{-1} e H_2O_2 5 mmol L^{-1} . A reação

foi conduzida a temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro UV-visível a 430 nm e seu coeficiente de extinção molar ($2,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) foi usado para calcular a atividade específica da enzima, expressa em $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

Determinação da Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A determinação da atividade da Superóxido Dismutase foi determinada pela adição de 50 μL de extrato enzimático a uma solução contendo 13 nM de metionina, 75 μM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 μM de riboflavina e tampão fosfato de sódio 50 mM pH 7,8. A reação foi realizada na presença de luz (>15 watts) por 10 minutos em temperatura ambiente (25°C), enquanto os tubos considerados controle foram mantidos no escuro. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro a 560nm. Para o cálculo da atividade específica da enzima, considerou-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína da amostra ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

3.2.3.3 Análise estatística

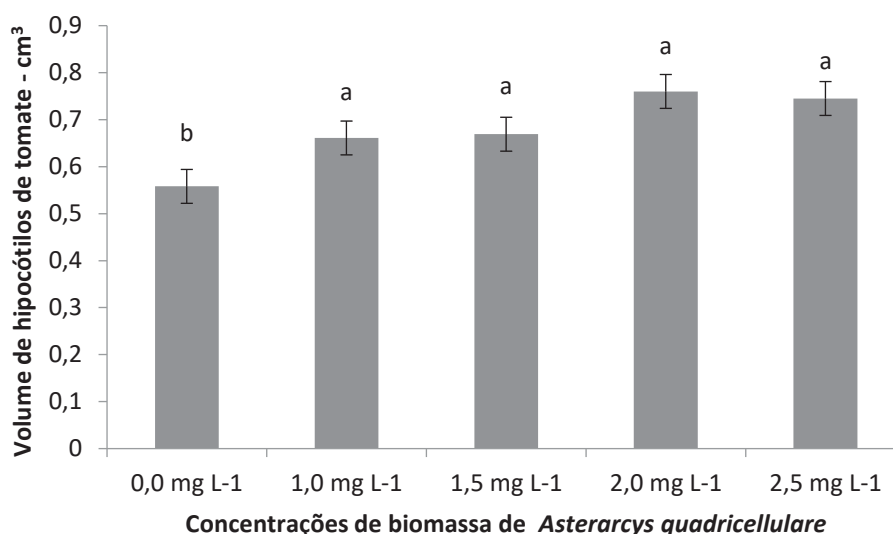
Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e o teste de comparação de médias foi efetuado por Tukey ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas no software R.

3.3 RESULTADOS

Bioensaio

A biomassa da microalga *A. quadricellulare* obtida em sistema mixotrófico (Alltech® Crop Sciences – Brasil), apresentando 90,94 mg g⁻¹ de aminoácidos livres totais, correspondendo a 9 % de aminoácidos livres em peso, promoveu o aumento no volume dos hipocótilos (cm³) de plântulas de tomate em bioensaio (FIGURA 1), ficando caracterizada a sua bioatividade: “efeito benéfico que o produto biofertilizante apresenta sobre o todo ou partes das plantas cultivadas” (BRASIL, 2020).

FIGURA 1. VALORES DO VOLUME DE HIPOCÓTILOS DE TOMATE EM BIOENSAIO CONDUZIDO EM CÂMARA DE CRESCIMENTO (B.O.D.) COM CAIXAS GERBOX FORRADAS COM PAPEIS DE FILTRO EMBEBIDOS EM SOLUÇÕES COM AS CONCENTRAÇÕES DE 0,0; 1,0; 1,5; 2,0 E 2,5 mg L⁻¹ DA BIOMASSA SECA DE *Asterarcys quadricellulare*.



Experimento 1

A germinação (TABELA 1) foi afetada pela salinidade e pela aplicação da biomassa de microalga, não sendo encontradas diferenças entre as cultivares estudadas. No controle sem a aplicação da microalga, a porcentagem de germinação diminuiu conforme aumentaram as concentrações de sal a partir de 60 mmol L⁻¹ de NaCl, com a germinação que inicialmente foi 97% sendo reduzida para 90% na maior concentração salina. Por outro lado, verificou-se o aumento progressivo da porcentagem de germinação com a

aplicação da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* na maior concentração salina (80 mmol L⁻¹ de NaCl).

TABELA 1 - PORCENTAGEM DE GERMINACAO DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE 0 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *Asterarcys quadricellulare* E SALINIDADES (0 mmol L⁻¹; 40 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Germinação (%)				
	0 mg L-1	1,0 mg L-1	1,5 mg L-1	2 mg L-1	2,5 mg L-1
0 mmol L-1					
Zeus	97 ± 1	98 ± 0	98 ± 1	98 ± 0	97 ± 1
Lança	97 ± 2	98 ± 0	98 ± 2	98 ± 1	97 ± 1
\bar{X}	97 Aa	98 Aa	98 Aa	98 Aa	97 Aa
40 mmol L-1					
Zeus	95 ± 1	97 ± 1	97 ± 1	96 ± 1	95 ± 1
Lança	97 ± 1	96 ± 0	97 ± 1	95 ± 1	95 ± 1
\bar{X}	96 ABa	96 ABa	97 Aa	96 ABb	95 Bb
60 mmol L-1					
Zeus	93 ± 1	93 ± 1	93 ± 1	94 ± 0	95 ± 1
Lança	94 ± 1	94 ± 0	94 ± 0	95 ± 1	95 ± 1
\bar{X}	94 ABb	93 Bb	93 Bb	94 ABc	95 Ab
80 mmol L-1					
Zeus	87 ± 1	92 ± 2	93 ± 3	94 ± 1	94 ± 1
Lança	92 ± 2	93 ± 1	94 ± 0	94 ± 1	95 ± 2
\bar{X}	90 Cc	92 Bb	93 ABb	94 Ac	94 Ab
C					*
S					*
A					*
CxS					ns
CxA					ns
AxS					*
CxAxS					ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *Asterarcys quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 40 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = tratamento de sementes com *Asterarcys quadricellulare*. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

Com a imposição da salinidade, ocorreu redução do comprimento da parte aérea das plântulas de soja, já a partir de 40 mmol L⁻¹ de NaCl, o mesmo ocorreu com o volume das raízes. O comprimento das raízes na cv. Lança apresentou melhor desenvolvimento na salinidade de 40 mmol L⁻¹ (TABELA 2).

Quando as sementes foram tratadas com a biomassa da microalga, o comprimento de parte aérea apresentou crescimento a partir da dose de 1,5 mg L⁻¹ para a cultivar Zeus nas maiores concentrações salinas, enquanto para a cv. Lança, o incremento ocorreu a partir da dose de 1,0 mg L⁻¹ na salinidade de 60 mmol L⁻¹ de NaCl, e no tratamento controle sem imposição de salinidade.

TABELA 2. COMPRIMENTO DE PARTE AÉREA (cm), COMPRIMENTO DE RAIZ (cm) E VOLUME DE RAIZ (cm²) DAS PLANTULAS DE SOJA EM LABORATÓRIO, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *Asterarcys quadricellulare*. E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 40 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Comprimento de parte aérea (cm)					Comprimento de raiz (cm)					Volume de raiz (cm³)				
	0 mg L ⁻¹	1,0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹
0 mmol L ⁻¹															
Zeus	158 ± 3,8 Bab	158 ± 1,9 Bab	163 ± 1,3 Bab	167 ± 1,6 Aab	167± 3,3 Aab	240 ± 2,9 Bbb	254 ± 3,4 ABbb	255± 3,9 Abcb	257 ± 4,9 ABbb	259 ± 3,5 Abb	2,4 ± 0,09 Aab	2,5 ± 0,07 Abb	2,5 ± 0,02 Abb	2,5 ± 0,1 Abb	2,5 ± 0,04 Abb
Lança	208 ± 1,3 Baā	212 ± 1,5 Aaā	209 ± 1,3 ABaā	204 ± 2,5 Baā	204 ± 2,3 Baā	313 ± 1,9 ABaā	321 ± 8,4 Aaā	292± 8,6 Caā	286 ± 8,0 Caā	296 ± 3,7 BCaā	2,7 ± 0,1 Baā	2,7 ± 0,07 Baā	2,9 ± 0,1 Baā	3,3 ± 0,2 Aaā	3,3± 0,1 Aaā
40 mmol L ⁻¹															
Zeus	142 ± 1,9 Abb	141 ± 2,0 Abb	142 ± 3,0 Abb	144 ± 4,2 Acb	141 ± 1,3 Acb	270 ± 15,4 Aaā	280 ± 1,3 Aaā	272± 4,5 Abā	275 ± 5,5 Aaā	271± 2,5 Abā	2,7 ± 0,1 Aaā	2,7 ± 0,2 Aaā	2,8 ± 0,04 Aaab	2,7 ± 0,2 Aabā	2,8 ± 0,09 Aaā
Lança	161 ± 4,6 Cbā	171 ± 7,8 ABbā	177 ± 2,6 Abā	169 ± 2,0 Bbā	176 ± 1,9 Abā	256 ± 0,5 Abb	256 ± 1,3 Abb	262± 6,4 Abā	260 ± 3,3 Abb	262 ± 4,1 Abā	2,2 ± 0,1 Abb	2,3 ± 0,02 Abb	2,3 ± 0,05 Abb	2,4 ± 0,09 Abb	2,4 ± 0,1 Abb
60 mmol L ⁻¹															
Zeus	129 ± 2,8 Ccb	129 ± 0,5 Ccb	138 ± 3,7 Bbb	150 ± 6,4 Abā	155 ± 3,5 Abā	251 ± 16,3 Cbā	255 ± 8,4 BCbā	290± 7,3 Aaā	272± 14,4 ABabā	269 ± 24,4 BCbā	2,0 ± 0,3 Cbā	2,5 ± 0,07 Bbā	2,6 ± 0,3 ABbā	2,6± 0,04 ABabā	2,8 ± 0,09 Aaā
Lança	134 ± 2,6 Bcā	142 ± 5,2 Aca	143 ± 2,4 Aca	143 ± 6,6 Acb	142 ± 1,1 Acb	217 ± 2,0 Ccb	226 ± 8,0 Bcb	251± 10,2 Abb	245 ±2,2 Abb	242 ± 2,4 Bcb	2,1 ± 0,1 Bbcā	2,3 ± 0,1 ABbā	2,6± 0,2 Aca	2,6± 0,07 Abā	2,6 ± 0,2 Abā
80 mmol L ⁻¹															
Zeus	113 ± 4,8 Bdb	116 ± 3,5 Bdb	125 ± 1,5 Aca	124 ± 3,9 Ada	129 ± 1,2 Ada	198 ± 5,7 Dca	222 ± 4,2 Cca	257± 22,3 Bbcā	268 ± 20,8 Babā	298 ± 13,6 Aaā	2,1 ± 0,1 Bbā	3,0 ± 0,1 Aaā	3,0 ± 0,07 Aaā	2,9 ± 0,1 Aaā	2,9 ± 0,08 Aaā
Lança	121 ± 1,4 Ada	122 ± 0,2 Ada	125 ± 1,9 Ada	123 ± 1,6 Ada	124 ± 2,3 Adb	197 ± 11,8 Ada	197 ± 8,1 Adb	198± 3,2 Acb	198± 5,5 Acb	199 ± 10,7 Adb	1,9 ± 0,1 Aca	1,9 ± 0,1 Acb	2,0 ± 0,1 Adb	2,0 ± 0,06 Acb	2,0± 0,5 Acb
C				*	*					*					*
S				*	*					*					*
A				*	*					*					*
CxS				*	*					*					*
CxA				*	*					*					*
AxS				*	*					*					*
CxAxS				*	*					*					*

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *Asterarcys quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 40 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = tratamento de sementes com *Asterarcys quadricellulare*. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

O comprimento das raízes (TABELA 2) na cv. Zeus apresentou maior incremento na salinidade 60 mmol L⁻¹ com a dose 1,5 mg L⁻¹ da biomassa da microalga. Já em 80 mmol L⁻¹ de NaCl, cv. Zeus apresentou aumento progressivo do comprimento de acordo com o aumento das doses de *A. quadricellulare*, proporcionando ganho de 50% no comprimento das raízes com a dose 2,5 mg L⁻¹, comparado com o controle sem aplicação de biomassa. Para a cv. Lança, a aplicação de biomassa apresentou maiores incrementos nas doses 1,5 e 2,0 mg L⁻¹ quando esta estava em 60 mmol L⁻¹ de NaCl.

No volume das raízes (TABELA 2), a aplicação da microalga promoveu incremento nas maiores concentrações salinas (60 e 80 mmol L⁻¹), destacando a dose de 2,5 mg L⁻¹ em 60 mmol L⁻¹ de NaCl na cv. Zeus. Enquanto na cv. Lança, a aplicação de *A. quadricellulare* foi benéfica quando as sementes não estavam em condição de salinidade nas doses de 2,0 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹; e a partir de 1,5 mg L⁻¹ de biomassa na salinidade de 60 mmol L⁻¹ de NaCl.

Experimento 2

Com a imposição da salinidade, verificou-se redução do teor relativo de clorofila (TABELA 3) das plantas quando comparado com o controle sem NaCl, em ambas cultivares. O tratamento com *A. quadricellulare* promoveu o aumento do teor relativo de clorofila nas plantas que não estavam submetidas ao estresse salino, na dose de 1,5 mg L⁻¹ para a cv. Zeus e de 2,5 mg L⁻¹ para a cv. Lança.

TABELA 3 - VALORES TEOR RELATIVO DE CLOROFILA DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DENaCl).

	Teor Relativo de Clorofila		
	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹
0 mmol L ⁻¹			
Zeus	380±11,6 Baa	429±31,8 Aaa	389±57,0 ABab
Lança	411±51,7 Baa	444±26,1 Baa	528±15,0 Aaa
60 mmol L ⁻¹			
Zeus	222±15,8 Aba	241±6,5 Aba	226±30,0 Aba
Lança	248±11,1 Aba	242±21,2 Aba	227±17,6 Aba
80 mmol L ⁻¹			
Zeus	211±23,9 Aba	226±18,4 Aba	245±10,7 Aba
Lança	214±27,9 Aba	227±47,9 Aba	243±21,4 Aba
C			*
S			*
A			**
CxS			*
CxA			**
AxS			**
CxAxS			**

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = não significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

Ocorreu redução da altura (comprimento da parte aérea em cm) da cv. Zeus na concentração de 80 mmol L⁻¹ de NaCl. A aplicação da biomassa de *A. quadricellulare* foi eficaz na manutenção da altura das plantas dose de 2,5 mg L⁻¹ nas duas cultivares quando submetidas a maior maior concentração salina (TABELA 4).

Verificou-se redução da área foliar (TABELA 4) com a salinidade de 80 mmol L⁻¹ em ambas as cultivares. A dose de 1,5 mg L⁻¹ da biomassa de *A. quadricellulare* contribuiu para a manutenção da área foliar da cv. Zeus na salinidade de 80 mmol L⁻¹, e a dose de 2,5 mg L⁻¹ para a manutenção da área foliar na cv. Lança, que em 80 mmol L⁻¹ de NaCl, teve aumento de 69,1 cm² no controle sem aplicação de biomassa, para 183,6 cm² na dose de 2,5 mg L⁻¹.

TABELA 4. VALORES DE COMPRIMENTO DE PARTE ÁÉREA (cm); ÁREA FOLIAR (cm²); MASSA FRESCA DE PARTE ÁÉREA (g) E MASSA SECA DE PARTE ÁÉREA (g) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Comprimento de Parte Aérea (cm)			Área Foliar (cm²)			Massa Fresca de Parte Aérea (g)			Massa Seca de Parte Aérea (g)		
	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹
0 mmol L ⁻¹												
Zeus	14,4 ± 0,9 Babb	15,7 ± 1,2 ABaba	16,4 ± 0,7 Aaa	175,5 ± 16,7 Bba	233,8 ± 14,7 Aaa	178,6 ± 14,1 Bba	5,5 ± 0,5	7,0 ± 0,5	5,7 ± 0,5	6,1 aa	1,1 ± 0,14	0,89 ± 0,06
Lança	16,2 ± 1,0 Aaa	16,6 ± 0,6 Aaa	16,2 ± 0,3 Aaa	158,6 ± 14,5 Ba	206,5 ± 16,3 Aab	171,9 ± 4,4 Bba	4,4 ± 0,3	4,9 ± 0,7	4,6 ± 0,3	4,6 ab	0,94 ± 0,09	0,93 ± 0,03
\bar{X}											1,02 Aa	0,91 Ba
60 mmol L ⁻¹												
Zeus	15,8 ± 1,7 Aaa	16,7 ± 0,7 Aaa	16,4 ± 0,6 Aaa	200,9 ± 9,6 Baa	250,0 ± 22,6 Aaa	210,9 ± 11,7 Baa	6,8 ± 0,4	7,0 ± 0,8	6,6 ± 0,8	6,8 aa	0,94 ± 0,03	0,85 ± 0,06
Lança	15,5 ± 1,4 Aaa	15,5 ± 0,9 Aaba	16,9 ± 0,3 Aaa	161,4 ± 5,9 Baa	168,4 ± 14,8 Bbb	215,9 ± 14,2 Aaa	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,4	5,7 ± 0,6	5,0 ab	0,67 ± 0,01	0,85 ± 0,05
\bar{X}											0,80 Ab	0,85 Aa
80 mmol L ⁻¹												
Zeus	13,5 ± 1,0 Bbb	14,7 ± 1,2 ABba	15,4 ± 0,2 Aaa	152,1 ± 5,8 Aba	175,9 ± 12,3 Aba	165,1 ± 4,5 Aba	5,6 ± 0,8	6,1 ± 0,7	5,4 ± 0,7	5,7 ba	0,82 ± 0,07	0,77 ± 0,05
Lança	16,8 ± 0,4 Aaa	13,9 ± 1,0 Bca	16,0 ± 0,9 Aaa	69,1 ± 20,9 Bbb	90,6 ± 12,5 Bcb	183,6 ± 23,7 Aba	1,8 ± 0,5	3,4 ± 1,8	3,9 ± 1,0	3,1 bb	0,61 ± 0,18	0,71 ± 0,07
\bar{X}											0,74 Ab	0,74 Ab
Média cv. Zeus							5,9 Ba	6,7 Aa	5,9 Ba		0,96 Aa	0,84 Ba
Média cv. Lança							3,6 Bb	4,3 ABb	4,7 Aa		0,75 ABb	0,83 Aa
C			**			*				*		*
S			*			*				*		*
A			*			*				*		*
CxS			**			*				**		*
CxA			*			*				**		ns
AxS			ns			*				ns		**
CxAxS			**			*				ns		ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

A cv. Zeus apresentou maiores valores de massa fresca da parte aérea (TABELA 4) do que a cv. Lança; porém, ambas apresentaram redução na maior salinidade. A aplicação da microalga colaborou para o aumento da massa fresca na dose de 1,5 mg L⁻¹ para a cv. Zeus, e de 2,5 mg L⁻¹ para a cv. Lança.

No controle sem salinidade correu incremento da massa seca da parte aérea de ambas as cultivares (TABELA 4) na dose de 1,5 mg L⁻¹, enquanto em 80 mmol L⁻¹ o maior valor de massa seca na cv. Zeus ocorreu na dose de 1,5 mg L⁻¹, e para cv. Lança na dose de 2,5 mg L⁻¹ da biomassa de *A. quadricellulare*.

A salinidade afetou drasticamente o comprimento total das raízes das plantas de soja (TABELA 5), a partir de 60 mmol L⁻¹ para a cv. Lança e de 80 mmol L⁻¹ para a Zeus. A aplicação da microalga proporcionou melhorias no crescimento das raízes, especialmente para a cv. Lança, na qual a dose 2,5 mg L⁻¹ promoveu incremento de 34% quando submetida a salinidade de 60 mmol L⁻¹. Já para a cv. Zeus, a aplicação de *A. quadricellulare* na concentração de 2,5 mg L⁻¹, apresentou efeito significativo de aumento do comprimento das raízes quando as plantas não foram submetidas à salinidade.

O volume das raízes (TABELA 5) foi reduzido gradativamente com o aumento da salinidade, com a cv. Zeus apresentando maior volume que a cv. Lança em 80 mmol L⁻¹ de NaCl.

A massa fresca das raízes (TABELA 5) diminuiu com o aumento da salinidade a partir de 60 mmol L⁻¹ de NaCl, para as duas cultivares. A aplicação da microalga incrementou os valores para a cv. Lança na dose 2,5 mg L⁻¹ e 1,5 mg L⁻¹ nas salinidades de 60 e 80 mmol L⁻¹, respectivamente. Enquanto para Zeus, a dose de 1,5 mg L⁻¹ apresentou o maior valor de massa fresca das raízes na salinidade de 60 mmol L⁻¹ de NaCl. Ocorreu redução da massa seca das raízes com o aumento da salinidade em ambas as duas cultivares, sem interferência dos tratamentos com a biomassa da microalga.

TABELA 5 - VALORES DE COMPRIMENTO DE RAIZ (cm); VOLUME DE RAIZ (cm³); MASSA FRESCA DE RAIZ(g) E MASSA SECA DE RAIZ (g) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare*. E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Comprimento de Raiz (cm)			Volume de Raiz (cm³)			Massa Fresca de Raiz (g)			Massa Seca de Raiz (g)		
	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0 mmol L-1												
Zeus	3027,5 ± 199	Ba \bar{a} 3054,9 ± 340	Ba \bar{a} 3539,6 ± 224	Aa \bar{a}	6,2± 0,7	7,4 ± 0,7	6,8 ± 0,4	6,8 a \bar{a}	11,3 ± 1,5 Aa \bar{a}	11,2 ± 0,5 Aa \bar{a}	11,4 ± 0,4 Aa \bar{a}	0,4 ± 0,03 0,5 ± 0,01 0,4 ± 0,03 0,4 a \bar{b}
Lança	2768,0 ± 190	Aa \bar{a} 3007,3 ± 156	Aa \bar{a} 3009,8 ± 147	Aa \bar{b}	6,2± 0,2	7,5 ± 1,1	7,8 ± 0,2	7,2 a \bar{a}	10,7 ± 1,1 Aa \bar{a}	11,1 ± 0,8 Aa \bar{a}	11,3 ± 0,9 Aa \bar{a}	0,4 ± 0,03 0,5 ± 0,05 0,5 ± 0,03 0,5 a \bar{a}
60 mmol L-1												
Zeus	2677,3 ± 129	Aa \bar{a} 2907,2 ± 161	Aa \bar{a} 2859,8 ± 234	Aba \bar{a}	4,7± 0,4	5,9 ± 0,6	5,5 ± 0,4	5,4 ba \bar{a}	7,9 ± 1,3 Bba \bar{a}	10,5 ± 0,8 Aa \bar{a}	9,1 ± 0,7 ABba \bar{a}	0,3 ± 0,02 0,3 ± 0,03 0,3 ± 0,03 0,3 ba \bar{a}
Lança	1886,9 ± 82	Bb \bar{b} 1962,5 ± 222	Bb \bar{b} 2535,2 ± 180	Ab \bar{b}	5,5± 0,4	5,9 ± 0,4	6,3 ± 0,4	5,8 ba \bar{a}	7,1 ± 1,2 Bba \bar{a}	6,8 ± 0,7 Bb \bar{b}	9,1 ± 1,2 Aba \bar{a}	0,3 ± 0,02 0,3 ± 0,03 0,3 ± 0,02 0,3 ba \bar{a}
80 mmol L-1												
Zeus	1943,5 ± 160	Ab \bar{a} 2250,5 ± 437	Ab \bar{a} 2219,3 ± 256	Ac \bar{a}	3,4± 0,6	4,1 ± 0,6	3,8 ± 0,4	3,8 c \bar{a}	6,4 ± 1,4 Aba \bar{a}	7,4 ± 1,3 Aba \bar{a}	7,1 ± 0,8 Ac \bar{a}	0,2 ± 0,03 0,2 ± 0,02 0,2 ± 0,03 0,2 c \bar{a}
Lança	1421,3 ± 197	Bc \bar{a} 1757,0 ± 264	ABba \bar{a} 1816,0 ± 97	Ac \bar{a}	2,0± 0,7	3,6 ± 1,1	3,7 ± 0,6	3,1 cb \bar{a}	3,1 ± 1,1 Bcb \bar{a}	5,7 ± 1,2 Abb \bar{b}	6,3 ± 0,5 Ac \bar{a}	0,1 ± 0,05 0,2 ± 0,04 0,2 ± 0,03 0,2 c \bar{a}
C			*				ns			*		ns
S			*				*			*		*
A			*				*			*		*
CxS			*				*			**		**
CxA			ns				ns			**		ns
AxS			ns				ns			ns		ns
CxAxS			**				ns			**		ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

As raízes mais finas, com diâmetro até 0,5 mm, (TABELA 6) sofreram redução com o aumento da salinidade a partir de 60 mmol L⁻¹ na cv. Lança, e de 80 mmol L⁻¹ na cv. Zeus. Em 60 mmol L⁻¹, a dose de 2,5 mg L⁻¹ da biomassa da microalga promoveu aumento das raízes mais finas na cv. Lança, enquanto para Zeus, a dose de 2,5 mg L⁻¹ foi eficaz no controle, e a dose de 1,5 mg L⁻¹ promoveu aumento das raízes mais finas em 80 mmol L⁻¹.

Verificou-se redução do comprimento das raízes na estratificação do diâmetro de 0,5 a 1,0 mm com a salinidade a partir de 60 mmol L⁻¹, com cv. Zeus apresentando menor redução que cv. Lança. No diâmetro de 1,0 a 1,5 mm, a salinidade também resultou na redução a partir de 60 mmol L⁻¹ (TABELA 6).

TABELA 6. VALORES DE COMPRIMENTO DE RAIZ NO DIÂMETRO DE 0,0 A 0,5 mm (cm); COMPRIMENTO DE RAIZ NO DIÂMETRO DE 0,5 A 1,0 mm (cm) E COMPRIMENTO DE RAIZ NO DIÂMETRO DE 1,0 A 1,5 mm (cm); COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹; 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Comprimento de raiz no diâmetro 0,0 a 0,5 mm (cm)			Comprimento de raiz no diâmetro 0,5 a 1,0 mm (cm)			Comprimento de raiz no diâmetro 1,0 a 1,5 mm (cm)		
	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1
0 mmol L-1									
Zeus	2193,2 ± 157 Baa	2135,8 ± 227 Baa	2623,3 ± 218 Aaa	634,0 ± 107,2	705,5 ± 86,5	687,2 ± 85,0	141,6 ± 24,1	141,1 ± 38,1	144,5 ± 2,6
Lança	1955,2 ± 220 Aaa	2074,0 ± 176 Aaa	2049,0 ± 105 Aab	592,9 ± 37,3	639,2 ± 14,3	639,0 ± 55,4	161,8 ± 20,5	165,3 ± 17,6	179,5 ± 13,6
							604,3 a		142,4 ab
									168,8 aa
60 mmol L-1									
Zeus	1929,4 ± 93 Aaa	2069,5 ± 167 Aaa	2215,7 ± 230 Aba	607,8 ± 125,9	671,8 ± 81,3	593,9 ± 63,3	91,1 ± 27,7	104,1 ± 26,9	91,7 ± 19,3
Lança	1235,9 ± 79 Bbb	1373,6 ± 118 Bbb	1774,0 ± 111 Aab	461,5 ± 30,0	418,8 ± 84,4	533,8 ± 116,0	113,3 ± 10,8	92,7 ± 18,7	127,8 ± 5,6
							547,1 b		95,6 ba
									111,3 ba
80 mmol L-1									
Zeus	1335,9 ± 312 Bba	1694,8 ± 270 Aba	1627,2 ± 208 ABca	425,5 ± 150,4	453,2 ± 110,6	470,5 ± 68,6	66,4 ± 18,8	80,1 ± 22,4	62,8 ± 15,8
Lança	1008,3 ± 135 Abb	1284,5 ± 178 Abb	1295,8 ± 70 Abb	276,9 ± 61,0	333,9 ± 102,3	396,9 ± 40,1	33,8 ± 10,5	79,9 ± 22,5	69,6 ± 9,9
							392,1 c		69,1 ca
									69,7 ca
Média cv. Zeus	555,3	609,7				583,3	582,1 a		
Média cv. Lança	443	373,3				522,7	448,4 b		
C		*					*		**
S		*					*		*
A		*					ns		ns
CxS		*					ns		*
CxA		ns					ns		ns
AxS		ns					ns		ns
CxAxS		**					ns		ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare* 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

Ocorreu a redução do número de nódulos com o aumento da salinidade em ambas as cultivares (TABELA 7), apresentando uma severa queda em 60 mmol L⁻¹, chegando a ser inibida totalmente em 80 mmol L⁻¹ para a cv. Zeus no controle sem aplicação de microalga. Verificou-se o aumento do número de nódulos em função da aplicação *A. quadricellulare* no controle sem salinidade, com a dose de 1,5 mg L⁻¹ proporcionando aumento de 40% no número de nodúlos da cv. Zeus, e a dose de 2,5 mg L⁻¹ proporcionando aumento de 59% no número dos nódulos da cv. Lança.

A imposição da salinidade provocou redução do volume dos nódulos, enquanto a aplicação da microalga na maior dose possibilitou nódulos com maiores volumes comparados ao controle sem aplicação, e também o aumento do diâmetro dos nódulos pela aplicação da microalga em 80 mmol L⁻¹(TABELA 7).

TABELA 7 - VALORES DE NÚMERO DE NÓDULOS; VOLUME TOTAL DOS NÓDULOS (cm³) E DIÂMETRO MÉDIO DOS NÓDULOS (mm) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Número de nódulos			Volume dos nódulos (cm³)			Diâmetro dos nódulos (mm)		
	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1
	\bar{X}			\bar{X}			\bar{X}		
0 mmol L-1									
Zeus	15,2 ± 0,9	Baa	21,2 ± 9,0	Aaa	16,0 ± 5,2	Bab	0,38 ± 0,06	0,48 ± 0,30	0,48 ± 0,10
Lança	16,0 ± 0,8	Baa	16,5 ± 2,3	Bab	25,5 ± 5,4	Aaa	0,31 ± 0,05	0,44 ± 0,09	0,60 ± 0,30
\bar{X}							0,34	0,46	0,54
60 mmol L-1									
Zeus	3,2 ± 1,5	Ab \bar{a}	6,5 ± 2,0	Ab \bar{a}	5,8 ± 1,5	Ab \bar{a}	0,06 ± 0,04	0,10 ± 0,03	0,11 ± 0,02
Lança	2,7 ± 0,9	Ab \bar{a}	6,2 ± 0,9	Ab \bar{a}	6,0 ± 2,0	Ab \bar{a}	0,03 ± 0,02	0,10 ± 0,07	0,12 ± 0,04
\bar{X}							0,04	0,1	0,11
80 mmol L-1									
Zeus	0,0 ± 0,0	Ab \bar{a}	0,5 ± 0,5	Ac \bar{a}	1,2 ± 0,8	Ab \bar{a}	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,02	0,01 ± 0,01
Lança	0,5 ± 0,5	Ab \bar{a}	1,8 ± 0,9	Ab \bar{a}	3,8 ± 0,5	Ab \bar{a}	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,01
\bar{X}							0	0,01	0,02
Média geral							0,13 B	0,20 AB	0,23 A
C				ns					ns
S				*					*
A				*					**
CxS				ns					ns
CxA				*					ns
AxS				ns					*
CxAxS				*					ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

Para avaliar o estado fisiológico das plantas, foram feitas determinações bioquímicas nos tecidos vegetais. A imposição da salinidade provocou o aumento progressivo na concentração de aminoácidos livres nas folhas das plantas de soja, em ambas as cultivares, com a cv. Lança apresentando maiores valores de aminoácidos livres, tanto no controle quanto na imposição da salinidade.

A aplicação da biomassa da microalga foi eficaz para a cv. Zeus quando estava em 80 mmol L^{-1} , com o teor de aminoácidos nas folhas significativamente maior na dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$, apresentando 25% de incremento em relação ao controle sem aplicação de biomassa. Já na cv. Lança, essa mesma dose de biomassa proporcionou melhorias tanto no controle sem salinidade, quanto nos dois níveis de salinidade (FIGURA 9).

Nas raízes, os aminoácidos livres totais (TABELA 8) também aumentaram com o aumento da salinidade, e a dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ da biomassa promoveu incremento na média de ambas as cultivares.

Ao contrário dos aminoácidos, a salinidade reduziu drasticamente o conteúdo de proteína presente nas folhas, de ambas cultivares (TABELA 8). A aplicação de microalga promoveu o aumento das proteínas quando as plantas não estavam em condição salina, na cv. Zeus com a dose de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ e na cv. Lança as doses de $1,5$ e $2,5 \text{ mg L}^{-1}$.

A concentração de prolina nas folhas (TABELA 9), assim como de aminoácidos livres totais apresentaram incrementos com o aumento da salinidade. A dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ da biomassa promoveu o aumento de prolina na cv. Zeus nos dois níveis de salinidade. Na cv. Lança, a dose de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ da biomassa promoveu aumento no controle e no maior nível de salinidade, já em 60 mmol L^{-1} , a dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ promoveu a maior concentração de prolina.

Nas raízes, a prolina apresentou aumento de 50% na cv. Lança com a dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de biomassa, na maior concentração salina (TABELA 9).

TABELA 8 - VALORES DE AMINOÁCIDOS LIVRES TOTAIS NAS FOLHAS (µG G-1); AMINOÁCIDOS LIVRES TOTAIS NAS RAÍZES (µG G-1) E PROTEÍNA NAS FOLHAS (µG G-1) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Aminoácidos livres totais nas folhas (µg g-1)			Aminoácidos livres totais nas raízes (µg g-1)			Proteína nas folhas (µg g-1)		
	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1
0 mmol L-1									
Zeus	2865,1 ± 522 Aba	2587,2 ± 38 Aba	2800,3 ± 186 Acb	659,1 ± 58	689,0 ± 86	667,7 ± 45	12940,7 ± 3575 ABaa	14738,7 ± 4200 Aab	8820,0 ± 3276 Bab
Lança	3220,4 ± 300 Bca	3304,1 ± 462 Bca	4675,3 ± 186 Aca	722,1 ± 43	696,7 ± 36	743,7 ± 165	13832,5 ± 1586 Baa	18976,2 ± 3220 Aaa	20938,7 ± 8407 Aaa
\bar{X}				690,6	692,9	705,7			
60 mmol L-1									
Zeus	5002,0 ± 247 Aab	5379,7 ± 51 Aaa	5546,3 ± 629 Abb	940,2 ± 48	973,7 ± 52	1123,7 ± 57	3349,2 ± 498 Aba	3813,7 ± 711 Aba	4563,7 ± 1034 Aaa
Lança	6755,1 ± 539 ABba	6030,7 ± 449 Bba	7070,6 ± 70 Aba	858,1 ± 86	1090,4 ± 142	1230,7 ± 140	5807,5 ± 1367 Aba	5807,1 ± 1734 Aba	6201,2 ± 829 Aba
\bar{X}				899,2	1032,1	1177,2			
80 mmol L-1									
Zeus	5751,5 ± 233 Bab	5934,2 ± 125 Bab	7159,8 ± 567 Aab	1052,6 ± 73	1048,8 ± 137	1064,9 ± 106	4915,7 ± 1279 Aba	4476,2 ± 913 Aba	6623,5 ± 783 Aaa
Lança	8560,1 ± 886 ABaa	7911,6 ± 492 Baa	8826,6 ± 101 Aaa	1076,3 ± 504	1106,3 ± 142	1260,4 ± 180	6745,2 ± 479 Aba	5363,7 ± 2038 Aba	5157,5 ± 730 Aba
\bar{X}				1064,5	1077,6	1162,4			
Média geral				884,7 B	934,1 AB	1015,2 A			
C			*						*
S			*						*
A			*						ns
CxS			*						*
CxA			ns						ns
AxS			ns						ns
CxAxS			*						*

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

TABELA 9 - VALORES DE PROLINA NAS FOLHAS ($\mu\text{g g}^{-1}$) E PROLINA NAS RAÍZES ($\mu\text{g g}^{-1}$) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Prolina nas folhas ($\mu\text{g g}^{-1}$)			Prolina nas raízes ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹
0 mmol L ⁻¹						
Zeus	8,1 ± 0,4 Ab _a	5,7 ± 0,4 Ac _b	7,5 ± 2,1 Ac _a	4,6 ± 0,7 Aa _a	3,7 ± 0,9 Aa _a	4,1 ± 0,4 Aa _a
Lança	5,5 ± 1,5 Bc _a	10,3 ± 3,2 Ab _a	5,7 ± 0,3 Bc _a	3,3 ± 0,3 Aa _b	3,8 ± 0,8 Aa _a	3,6 ± 0,7 Ab _a
60 mmol L ⁻¹						
Zeus	6,7 ± 0,8 Cb _b	17,2 ± 2,2 Ba _a	24,1 ± 3,3 Aa _a	3,5 ± 0,3 Ab _a	4,1 ± 0,4 Aa _a	4,0 ± 0,5 Aa _a
Lança	15,2 ± 0,2 ABb _a	11,3 ± 0,1 Bb _b	18,3 ± 1,8 Ab _b	3,6 ± 0,8 Aa _a	3,2 ± 0,4 Aa _a	3,2 ± 0,5 Ab _a
80 mmol L ⁻¹						
Zeus	13,7 ± 1,0 ABa _b	9,9 ± 1,6 Bb _b	16,3 ± 2,6 Ab _b	4,4 ± 0,1 Aa _a	4,1 ± 0,7 Aa _a	3,9 ± 1,1 Aa _b
Lança	19,7 ± 0,8 Ba _a	26,8 ± 2,6 Aa _a	26,4 ± 6,1 Aa _a	3,4 ± 0,3 Ba _a	3,8 ± 0,3 Ba _a	5,1 ± 1,3 Aa _a
C			*			**
S			*			**
A			*			ns
CxS			*			ns
CxA			*			ns
AxS			*			ns
CxAxS			*			*

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

A aplicação da microalga na dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ promoveu aumento do teor de clorofila *a* na cv. Lança quando esta não estava em condição salina. A clorofila *b*, clorofila total e carotenoides tiveram os teores reduzidos com o aumento da salinidade. Comparando as cultivares, Lança apresentou valores superiores a Zeus (TABELA 10).

Os açúcares totais nas folhas apresentaram redução na concentração salina de 60 mmol L^{-1} . Os açúcares redutores apresentaram aumento com as plantas na maior salinidade, com redução na dose de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$. Já os açúcares não redutores nas folhas sofreram queda com o aumento da salinidade na cv. Lança a partir de 60 mmol L^{-1} , enquanto na cv. Zeus somente a maior salinidade (TABELA 11).

Nas raízes, os valores de açúcares totais variaram de $758,0 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ a $1262,6 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, sem apresentar diferenças significativas (dados não apresentados). Comparando cultivares, Zeus apresentou maiores teores de açúcares redutores que Lança, sendo tanto açúcares redutores quanto não redutores reduzidos com a salinidade de 80 mmol L^{-1} apenas na cv. Zeus. A aplicação da microalga em ambas as doses nessa cultivar foi eficaz em aumentar os teores dos açúcares não redutores (TABELA 12).

A porcentagem de inibição do DPPH aumentou com o aumento da salinidade e também foi maior quando as sementes foram tratadas com a dose de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ da biomassa, indicando que a aplicação de *A. quadricellulare* apresentou efeito antioxidante contribuindo na redução dos radicais livres (TABELA 12).

TABELA 10. VALORES DE CLOROFILA a (mg g⁻¹); CLOROFILA b (mg g⁻¹); CLOROFILA TOTAL (mg g⁻¹) E CAROTENOIDES (mg G⁻¹) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare*. E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Clorofila a (mg g ⁻¹)			Clorofila b (mg g ⁻¹)			Clorofila total (mg g ⁻¹)			Caroteinóides (mg g ⁻¹)		
	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
0 mmol L ⁻¹												
Zeus	0,3 ± 0,13 Aab	0,3 ± 0,07 Aab	0,2 ± 0,04 Aab	0,12 ± 0,1	0,15 ± 0,05	0,12 ± 0,05	0,47 ± 0,07	0,4 ± 0,04	0,35 ± 0,06	0,25 ± 0,06	0,17 ± 0,03	0,2 ± 0,06
Lança	0,5 ± 0,07 Ba	0,6 ± 0,1 ABa	0,8 ± 0,3 Aa	0,25 ± 0,09	0,25 ± 0,1	0,27 ± 0,01	0,75 ± 0,13	0,82 ± 0,2	1,05 ± 0,4	0,31 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,45 ± 0,01
												0, 28 a
60 mmol L ⁻¹												
Zeus	0,2 ± 0,05 Aab	0,2 ± 0,05 Aab	0,3 ± 0,03 Aab	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,02	0,32 ± 0,07	0,37 ± 0,04	0,35 ± 0,06	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,15 ± 0,02
Lança	0,4 ± 0,04 Aa	0,5 ± 0,1 Aa	0,5 ± 0,01 Ab	0,2 ± 0,05	0,22 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,57 ± 0,04	0,75 ± 0,15	0,72 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,32 ± 0,09	0,3 ± 0,1
												0,21 b
80 mmol L ⁻¹												
Zeus	0,2 ± 0,02 Aab	0,2 ± 0,02 Aab	0,2 ± 0,01 Aa	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,07	0,32 ± 0,05	0,3 ± 0,03	0,32 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,1 ± 0,06	0,1 ± 0,02
Lança	0,4 ± 0,05 Aa	0,4 ± 0,03 Aa	0,4 ± 0,05 Ab	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,08	0,7 ± 0,06	0,7 ± 0,03	0,6 ± 0,13	0,3 ± 0,02	0,27 ± 0,05	0,22 ± 0,01
												0,19 b
Média cv. Zeus				0,11	0,11	0,11	0,37	0,35	0,34	0,16	0,13	0,15
Média cv. Lança				0,22	0,22	0,22	0,67	0,75	0,79	0,27	0,31	0,32
												0,14 b
												0,31 a
C	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
A	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CxS	**	**	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CxA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AxS	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CxAxS	**	**	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

TABELA 11. VALORES DE AÇÚCARES TOTAIS NAS FOLHAS (µg g⁻¹); AÇÚCARES REDUTORES NAS FOLHAS (µg g⁻¹) E AÇÚCARES NÃO REDUTORES NAS FOLHAS (µg g⁻¹) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Açúcares totais nas folhas (µg g ⁻¹)			Açúcares redutores nas folhas (µg g ⁻¹)			Açúcares não redutores nas folhas (µg g ⁻¹)		
	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹
0 mmol L ⁻¹									
Zeus	9515,9 ± 540	9405,7 ± 657	9532,7 ± 346	4486,7 ± 230	4625,3 ± 281	4674,5 ± 196	4744,3 ± 476	4780,4 ± 521	4858,3 ± 525
Lança	10403,8 ± 404	10282,2 ± 594	10840,5 ± 870	4853,6 ± 389	4890,5 ± 632	5540,9 ± 743	5658,5 ± 145	5391,7 ± 258	5299,6 ± 329
\bar{X}				4670,1 Ab	4757,9 Aa	5107,7 Ab			5449,9 aa
60 mmol L ⁻¹									
Zeus	9182,4 ± 507	9240,1 ± 111	9312,7 ± 544	4651,1 ± 385	4971,4 ± 315	4925,8 ± 527	4531,2 ± 373	4782,7 ± 349	4511,5 ± 182
Lança	10488,2 ± 1043	9684,6 ± 134	9099,6 ± 503	4965,2 ± 245	4578,2 ± 454	5045,5 ± 124	3943,2 ± 516	4631,4 ± 292	4214,1 ± 211
\bar{X}				4808,2 Ab	4774,8 Aa	4985,7 Ab			4262,8 ba
80 mmol L ⁻¹									
Zeus	9544,3 ± 305	9004,9 ± 337	9482,6 ± 335	5617,1 ± 548	4953,6 ± 346	5971,3 ± 831	3927,2 ± 412	4051,3 ± 305	3565,5 ± 559
Lança	10717,2 ± 338	9043,4 ± 997	10016 ± 1002	7727,5 ± 543	5751,3 ± 1590	6670,8 ± 1414	2988,2 ± 358	3292,1 ± 677	3345,1 ± 991
\bar{X}				6672,3 Aa	5352,5 Ba	6294,1 Aa			3208,5 cb
Média geral	9975,3 A	9445,1 B	9714,0 AB						
Média cv. Zeus	9414,2	9216,9	9442,7						
Média cv. Lança	10536,4	9673,4	9985,4						
C				*				*	ns
S				**				*	*
A				**				**	ns
CxS				ns				**	*
CxA				ns				ns	ns
AxS				ns				**	ns
CxAxS				ns				ns	ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

TABELA 12 - VALORES DE AÇÚCARES REDUTORES NAS RAÍZES (µg g⁻¹); AÇÚCARES NÃO REDUTORES NAS RAÍZES (µg g⁻¹) E DPPH (% DE INIBICAO) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	Açúcares redutores nas raízes (µg g-1)			Açúcares não redutores nas raízes (µg g-1)			DPPH (% de inibicao)			\bar{X}
	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	
0 mmol L-1										
Zeus	966,4 ± 21	972,4 ± 79	978,2 ± 102	1011,3 ± 93 Aaa	987,0 ± 96 Aaa	956,0 ± 48 Aaa	90,5 ± 3,5	91,7 ± 1,4	93,8 ± 2,1	86,7 c
Lança	758,8 ± 43	899,3 ± 180	905,3 ± 28	722,3 ± 99 Aab	970,8 ± 93 Aaa	862,7 ± 76 Aaa	81,6 ± 0,9	81,8 ± 2,3	81,2 ± 2,8	
60 mmol L-1										
Zeus	1022,8 ± 46	1063,1 ± 59	908,9 ± 64	927,7 ± 20 Aaa	839,6 ± 72 Aaa	961,2 ± 43 Aaa	95,3 ± 3,2	91,5 ± 3,8	96,5 ± 1,1	90,8 b
Lança	820,0 ± 90	795,5 ± 47	956,9 ± 88	873,8 ± 154 Aaa	1010,3 ± 123 Aaa	1007,1 ± 156 Aaa	80,1 ± 2,3	85,1 ± 5,0	90,2 ± 4,2	
80 mmol L-1										
Zeus	1262,6 ± 183	1119,7 ± 17	1074,5 ± 65	415,4 ± 37 Bbb	773,3 ± 24 Aaa	873,3 ± 82 Aaa	101,1 ± 2,5	99,6 ± 5,1	101,9 ± 5,5	96,4 a
Lança	1016,5 ± 184	1005,7 ± 67	967,9 ± 148	884,2 ± 41 Aaa	919,5 ± 78 Aaa	956,8 ± 134 Aaa	89,8 ± 1,1	91,6 ± 4,4	95,1 ± 4,3	
Média geral							87,9 B	90,2 AB	93,1 A	
Média cv. Zeus	1083,9 Aa	1051,7 Aa	987,2 Aa				95,6	94,3	97,4	96,4 a
Média cv. Lança	865,1 Ab	900,2 Ab	943,4 Aa				83,8	86,2	88,8	86,2 b
C			*			ns				*
S			*			**				*
A			ns			**				*
CxS			ns			*				ns
CxA			**			ns				ns
AxS			ns			ns				ns
CxAxS			ns			**				ns

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em ps0,01, ** = significativo a ps0,05.

A enzima antioxidante Peroxidase (POD) apresentou aumento da sua atividade com as plantas submetidas a salinidade de 60 e 80 mmol L⁻¹, enquanto doses de 1,5 e 2,5 mg L⁻¹ da biomassa da incrementaram ainda mais da atividade da enzima na maior condição salina (TABELA 13).

A atividade da enzima Superoxido Dismutase (SOD) também foi maior com o aumento dos níveis de salinidade, para as duas cultivares. A dose de 2,5 mg L⁻¹ proporcionou incremento na atividade enzimática, assim como, no maior nível de salinidade, a dose 1,5 mg L⁻¹ apresentou incremento na cv. Zeus. Para cv. Lança, as duas doses de biomassa foram efetivas em promover aumento da atividade antioxidante pela SOD, na salinidade de 80 mmol L⁻¹(TABELA 13).

A enzima Catalase (CAT) (TABELA 13), diferentemente das demais, não apresentou aumento da sua atividade com a salinidade. Já a aplicação da microalga promoveu o incremento da CAT na cv. Lança na salinidade de 60 mmol L⁻¹.

TABELA 13 –VALORE DE PEROXIDASE (POD), SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) E CATALASE (CAT) DAS DUAS CULTIVARES DE SOJA, COM APLICACAO DE: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ E 2,5 mg L⁻¹ DE BIOMASSA DE *A. quadricellulare* E SALINIDADE (0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ E 80 mmol L⁻¹ DE NaCl).

	POD (μmol de purpurogalina min-1 mg-1 de proteína)			SOD (atividade especifica U ug proteína)			CAT (nmol de H2O2 consumido.min-1.mg-1 proteína)		
	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1	0 mg L-1	1,5 mg L-1	2,5 mg L-1
0 mmol L-1									
Zeus	0,42 ± 0,02	0,42 ± 0,06	1 ± 0,4	33,67 ± 4,38 Bc _a	39,6 ± 6,52 Bc _a	70,4 ± 11,78 Ab _a	1,07 ± 0,30 Aa _a	0,70 ± 0,22 Aa _a	1,65 ± 0,62 Aa _a
Lança	0,52 ± 0,13	0,37 ± 0,06	0,4 ± 0,00	36,47 ± 4,06 Ab _a	27,1 ± 5,02 Ab _a	24,92 ± 5,31 Ab _b	2,0 ± 1,61 Aa _a	0,70 ± 0,65 Ab _a	1,37 ± 0,07 Aa _a
\bar{X}	0,47 Ab	0,4 Ab	0,7 Ab						
60 mmol L-1									
Zeus	1,9 ± 0,74	1,82 ± 0,49	1,35 ± 0,41	138,6 ± 37,67 Aa _a	144,3 ± 12,11 Aa _a	123,37 ± 23,90 Aa _a	1,50 ± 0,73 Aa _a	0,92 ± 0,29 Aa _b	1,32 ± 0,06 Aa _a
Lança	1,62 ± 0,64	1,37 ± 0,18	1,22 ± 0,14	83 ± 13,32 Aa _b	94,5 ± 38,14 Aa _b	86,25 ± 5,10 Aa _b	2,62 ± 5,40 Ba _a	4,04 ± 2,39 Aa _a	2,20 ± 1,33 Ba _a
\bar{X}	1,76 Aa	1,6 Aa	1,29 Aa						
80 mmol L-1									
Zeus	1,37 ± 0,20	2,12 ± 1,20	1,35 ± 0,34	83,9 ± 2,93 Bb _a	115,3 ± 23,47 Ac _a	76,5 ± 8,50 Bb _b	1,30 ± 0,26 Aa _a	1,25 ± 0,79 Aa _a	2,47 ± 0,61 Aa _a
Lança	1,2 ± 0,14	1,8 ± 0,66	1,7 ± 0,21	60,5 ± 7,86 Bb _a	116,32 ± 18,61 Aa _a	104,27 ± 3,07 Aa _a	2,32 ± 0,75 Aa _a	1,90 ± 1,46 Ab _a	1,40 ± 1,04 Aa _a
\bar{X}	1,28 Ba	1,96 Aa	1,52 Ab _a						
C			ns			**			**
S			**			**			**
A			ns			**			ns
CxS			ns			**			**
CxA			ns			ns			**
AxS			**			**			**
CxAxS			ns			**			**

Médias seguidas pela mesma letra não diferem no teste de Tukey. Tratamento de sementes com *A. quadricellulare*: 0 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹. Salinidade: 0 mmol L⁻¹; 60 mmol L⁻¹ e 80 mmol L⁻¹. Letras maiúsculas na linha = aplicação de *A. quadricellulare* via sementes. Letras minúsculas na coluna = salinidade entre a mesma cultivar. Letra sublinhada na coluna = difere cultivares. C = cultivares. S = salinidade. A = microalga. ANOVA: ns = nao significativo, * = significativo em p≤0,01, ** = significativo a p≤0,05.

De maneira geral, com a imposição da salinidade, a aplicação da biomassa de *A. quadricellulare* em comparação ao controle promoveu: a manutenção da porcentagem de germinação, manutenção do comprimento da parte aérea e do volume das raízes das plântulas. A manutenção da altura das plantas, da área foliar, das massas fresca e seca da parte aérea, o aumento do comprimento e massa fresca das raízes, a menor redução do número, volume e diâmetro dos nódulos. Promoveu também o aumento do teor de aminoácidos livres totais e de prolina nas folhas e nas raízes, aumento dos teores de açúcares não redutores nas raízes, aumento da atividade antioxidante total (DPPH) e das enzimas antioxidantes (POD, SOD, CAT).

Sem a imposição da salinidade, a aplicação da biomassa de *A. quadricellulare* em comparação ao controle promoveu: o incremento no comprimento da parte aérea das plântulas. Na plantas, o aumento do teor relativo de clorofila, incremento da massa seca da parte aérea, aumento do comprimento das raízes; aumento do número, volume e diâmetro dos nódulos. Promoveu também, o aumento do teor de aminoácidos livres totais e de prolina nas folhas, e o aumento das proteínas nas folhas.

3.4 DISCUSSÃO

A redução da germinação imposta pela salinidade a partir de 60 mmol L⁻¹ de NaCl, está relacionada à redução do potencial osmótico da solução pelo aumento da concentração dos sais, interferindo na disponibilidade e absorção de água pelas sementes, ou pelo efeito tóxico das concentrações de sal no embrião e endosperma, reduzindo o metabolismo e levando à inibição na mobilização das reservas (MARQUES et al., 2011). A germinação também foi retardada em sementes de milho, trigo e arroz a partir de 55 mmol L⁻¹ de salinidade (ARORA et al., 2010).

Os efeitos adversos do estresse salino foram mitigados pela adição da biomassa da microalga *A. quadricellulare* obtida em sistema mixotrófico (AQE) cuja bioatividade foi identificada em bioensaio, promovendo o aumento no volume de hipocótilos de plântulas de tomate (FIGURA 1). A biomassa aplicada às sementes de soja, diluída em inoculante de *Bradyrhizobium japonicum*,

atuou diretamente na germinação (TABELA 1), principalmente nas condições salinas mais severas (60 e 80 mmol L⁻¹ de NaCl). Esse aumento da germinação pode estar relacionado ao teor de aminoácidos livres na biomassa (90,94 mg g⁻¹), uma vez que essas moléculas podem atuar como sinalizadores de diversos processos fisiológicos benéficos nas plantas, como relatado por Teixeira et al. (2017), ao utilizarem aminoácidos em sementes de soja.

O efeito de microalgas na melhoria da germinação foi relatado por Agwa et al. (2018), que observaram a redução do tempo de germinação de *Telfaria occidentalis* quando as sementes foram tratadas com uma microalga Clorófito.

A salinidade causou a redução do comprimento da parte aérea e das raízes, bem como do volume das raízes das plântulas de soja (TABELA 2), possivelmente por inibir a translocação de reservas cotiledonares para os pontos de crescimento. Isso ocorre, em parte, pela redução de substâncias essenciais ao crescimento das raízes, como hormônios, nutrientes e aminoácidos em função do aumento excessivo de sais na solução (ALVES et al., 2013), que alcançou condutividade elétrica de 9,1 dS.m⁻¹ na concentração de 80 mmol L⁻¹ de NaCl.

O efeito da biomassa da microalga em promover o crescimento das plântulas ficou melhor caracterizado na cultivar de menor vigor (Zeus), que em 80 mmol L⁻¹ de NaCl apresentou aumento progressivo do comprimento de acordo com o aumento das doses de AQE, proporcionando ganho de 50% no comprimento das raízes com a dose 2,5 mg L⁻¹, em comparação ao controle sem aplicação de biomassa. Possivelmente, com a aplicação da AQ, ocorreu estímulo à degradação das reservas e mobilização para o crescimento inicial das plântulas, colaborando no aumento do comprimento da parte aérea e raízes, e volume das raízes (TABELA 2). Esse resultado está de acordo com estudos da aplicação de microalgas estimulando o crescimento das raízes e o aumento do tamanho do coleóptilo em plântulas de trigo, em condições de salinidade (EL ARROUSSI et al., 2018).

Espécies de microalgas podem apresentar moléculas com potencial bioativo que atuam no aumento da divisão e expansão celulares nos vegetais (EL NAGGAR et al., 2020), o que pode ser evidenciado pelo aumento do crescimento da parte aérea e raízes das plântulas de soja (TABELA 2). Para El Arroussi et al. (2016), moléculas presentes na biomassa de microalgas podem

contribuir no crescimento das plantas e na proteção das células aos estresses oxidativos, pois auxiliam no ajustamento osmótico (MUNOZ-ROJAS et al., 2018).

O aumento do volume das raízes das plantulas (TABELA 2) proporcionado pela aplicação de *AQE* nas sementes é corroborado pelos estudos de Barone et al. (2018), com a aplicação de microalgas promovendo incrementos no comprimento e a área de raízes. Segundo Lucini et al. (2015), os aminoácidos livres possuem capacidade de modificar o crescimento e arquitetura das raízes, justificando em parte os efeitos de *AQE*, que contém 9% de aminoácidos livres.

A partir dos resultados obtidos no primeiro experimento, verificou-se que a concentração de 40 mmol L⁻¹ não foi suficiente para afetar a germinação e crescimento das plântulas. Assim, no segundo experimento, optou-se por excluir tal concentração, mantendo-se as de 60 e 80 mmol L⁻¹. As doses de *AQE* selecionadas para a segunda etapa foram de 1,5 e 2,5 mg L⁻¹, por serem as que mais promoveram incrementos nas variáveis, principalmente no comprimento das plântulas.

A execução do segundo experimento leva em conta que a tolerância ao estresse salino é um fenômeno específico do estágio de desenvolvimento da planta, de modo que a tolerância em um estágio pode não estar relacionada com a tolerância em outros; portanto, estágios específicos devem ser avaliados separadamente (BAYUELO-JIMENEZ et al., 2012). Sendo assim, o primeiro experimento avaliou a germinação das sementes e desenvolvimento inicial das plântulas, enquanto o segundo experimento avalia os estágios vegetativos iniciais das plantas de soja até V4 (FEHR e CAVINESS, 1977).

A fotossíntese é o principal processo prejudicado pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em cloroplastos; portanto, a degradação da clorofila é um indicador rápido de respostas da planta (CELIK e ATAK, 2012), explicando assim a redução do teor relativo de clorofila das plantas de soja quando submetidas à salinidade (TABELA 3). A aplicação de *AQE* via sementes, promoveu aumento do teor relativo de clorofila nas plantas do controle (sem salinidade), estímulo que pode estar relacionado aos aumentos dos teores de aminoácidos livres nas folhas (SADAK et al., 2015; SOARES et al., 2016), como apresentado na Tabela 8.

A maior dose de *AQE* proporcionou aumento no comprimento da parte aérea (TABELA 4) das plantas de soja das duas cultivares na maior concentração salina. Esse resultado está de acordo com Cortés-Jiménez et al. (2014), que verificaram aumento da parte aérea e das raízes de plantas de tomate submetidas ao estresse salino quando tratadas com microalgas.

Sabe-se que em condições adversas as plantas desenvolvem formas de adaptação, resultando em alterações bioquímicas ou morfológicas, entre essas, se destaca a redução da área foliar, possivelmente relacionada a um dos mecanismos de adaptação ao estresse salino, diminuindo a superfície de transpiração (OLIVEIRA et al., 2017). No presente trabalho, verificou-se que a salinidade provoca a redução da área foliar nas duas cultivares quando no maior nível (80 mmol L⁻¹). Esse resultado está de acordo com o estudo de ZHANG et al. (2016) no qual o aumento da salinidade reduziu a área foliar, altura e comprimento de raízes de plantas de soja.

Em consequência da redução da área foliar, as massas fresca e seca da parte aérea também foram reduzidas com aumento nas concentrações de sal (TABELA 4), pois a redução da área foliar restringe o acúmulo de massa seca pela redução da área fotossintética.

O uso de *AQE* foi eficaz na manutenção da área foliar das plantas de soja (TABELA 4), resposta semelhante foi encontrada por El Nagggar et al. (2020), com a aplicação da microalga clorófito *Chlorella vulgaris*, contribuindo para o aumento da área foliar nas plantas de trigo e feijão em decorrência do maior acúmulo de clorofila nas folhas. Segundo Sadak et al. (2015), fontes de aminoácidos podem desempenhar um papel importante no metabolismo das plantas, sendo importantes para a síntese de clorofila e aumento da massa seca, como observado nos tratamentos com *AQE*.

A redução do comprimento total das raízes e de sua massa seca (TABELA 5), assim como a alteração da estratificação das raízes por diâmetros, reduzindo o comprimento das raízes mais finas (TABELA 6) pode ser devido à inibição dos níveis endógenos de fitohormônios causado pelo estresse salino, que resulta na redução do crescimento das raízes. A auxina é um hormônio importante para o crescimento e desenvolvimento das raízes (HASHEM et al., 2019) e tem como seu precursor o aminoácido triptofano. Portanto, a aplicação de *AQE* com alto teor de aminoácidos livres (90,94 mg g⁻¹

¹⁾ pode ter estimulado a síntese endógena de aminoácidos nas raízes (TABELA 8), promovendo seu crescimento, assim como de sua massa fresca (TABELA 5). Barone et al. (2018) também verificaram a influência positiva da aplicação de microalgas para o desenvolvimento do sistema radicular em beterraba e afirmam que os extratos de microalga possuem efeito de proteção a estresses abióticos.

A exposição das plantas a estresses geralmente induzem a expressão de genes que codificam a via do shikimato e, conseqüentemente, enzimas do metabolismo dos aminoácidos (TZIN e GALILI, 2010), relacionando em parte os efeitos de *AQE* ao seu conteúdo de aminoácidos livres.

Estresse salino diminui a colonização rizobial em soja, reduzindo os processos de infecção e o desenvolvimento dos nódulos, como apresentado na Tabela 7, com grande redução no número de nódulos em função do aumento da salinidade, efeito também relatado por Hashem et al. (2019).

A aplicação de *AQE*, promoveu o aumento do número de nódulos em plantas do controle sem imposição de salinidade, com as doses 1,5 e 2,5 mg L⁻¹ apresentando incrementos de 39% e 59% para as cv. Zeus e cv. Lança, respectivamente. Além da redução no número, a salinidade provocou redução do volume dos nódulos, entretanto *AQE* na maior dose possibilitou o aumento do diâmetro dos nódulos em 80 mmol L⁻¹. Esse efeito pode ser explicado pelo aumento da concentração de aminoácidos livres nas raízes (TABELA 8) e possível estimulação da síntese do fator Nod, fundamental para o processo de nodulação (ALMEIDA et al., 2014).

Verificou-se também, de maneira geral, o aumento no volume e diâmetro dos nódulos com o uso de *AQE* (TABELA 7), efeito que pode melhorar a eficiência do uso de nitrogênio na soja (GRESSHOFF et al., 2014).

O acúmulo de aminoácidos livres pode ser observado em plantas expostas aos estresses abióticos (BATISTA-SILVA et al., 2018), como no presente trabalho, com o acúmulo de aminoácidos livres nas folhas e raízes de soja pelo aumento da salinidade (TABELA 8). A dose de 2,5 mg L⁻¹ de *AQE* promoveu esse aumento, possibilitando relacionar o maior crescimento das plantas ao aumento dos teores de aminoácidos nas folhas e raízes (HILDEBRANDT et al., 2015).

O teor de proteínas pode ser um indicador bioquímico de estresses. Verificou-se que ocorreu degradação das proteínas com o aumento da salinidade nas duas cultivares, simultaneamente ao aumento do conteúdo de aminoácidos livres nas folhas. Esse resultado está de acordo com os encontrados por Batista-Silva et al. (2018) em *arabidopsis*, com as proteínas sendo degradadas em aminoácidos livres antes de serem remobilizadas para outras partes da planta em resposta ao estresse.

Com o uso de *AQE* ocorreu incremento do teor de proteínas na cv. Zeus em resposta ao maior nível de salinidade na dose de 2,5 mg L⁻¹, enquanto a cv. Lança teve incrementos no controle com as duas doses de *AQE*. Esses resultados indicam que o uso da biomassa da microalga promoveu o aumento nas proteínas das folhas de forma diferente nas cultivares.

Assim como de aminoácidos livres totais, o aumento da salinidade aumentou a concentração de prolina nas folhas (TABELA 9), como observado por El Arroussi et al. (2018) em trigo sob estresse salino e por Batista-Silva et al. (2018) em *Arabdopsis*.

O efeito de *AQE* em promover maior aumento da concentração de prolina nas folhas em resposta ao aumento da salinidade ficou bem caracterizado. Esse efeito contribui para a mitigação dos danos da salinidade, uma vez que a prolina é o principal aminoácido de resposta ao estresse (BUTT et al., 2016) por participar do ajustamento osmótico, protegendo as estruturas proteicas da desnaturação, estabilizando as membranas celulares e reduzindo a peroxidação lipídica pela melhora o sistema antioxidante das plantas (PER et al., 2017).

A clorofila *a* (TABELA 10) não sofreu redução com o aumento da salinidade, já os demais pigmentos fotossintéticos tiveram os teores reduzidos possivelmente induzido pelas EROs (FARHANGI-ABRIZ E GHASSEMI-GOLEZANI, 2016), como relatado por El Arroussi et al. (2018) e Kusvuran e Can (2020) com a salinidade reduzindo os pigmentos das folhas de trigo e feijão.

Os tratamentos com *AQE* promoveram o aumento dos teores de clorofila *a* (TABELA 10) na cv. Lança quando esta não estava exposta a salinidade, efeito que pode ser relacionado ao aumento da síntese endógena de aminoácidos e clorofila (SADAK et al., 2015).

A síntese e o acúmulo de osmoprotetores, como prolina e açúcares fazem parte das respostas das plantas para mitigar o efeito do estresse salino, com os açúcares contribuindo com mais de 50 % do potencial osmótico total das plantas em condições de estresse (ASHRAF e HARRIS, 2004). Os açúcares redutores, como a glicose e frutose, são pouco móveis no floema, já os açúcares não redutores, como a sacarose, tem maior mobilidade (TAIZ e ZEIGER, 2013).

No presente trabalho, o aumento do conteúdo de açúcares redutores nas folhas indica a adaptação das plantas submetidas a maior concentração salina, enquanto os açúcares totais e açúcares não redutores apresentaram redução com o aumento da salinidade. A aplicação de *AQE* nas duas doses promoveu o aumento dos açúcares não redutores na cultivar Zeus, como estímulo a adaptação ao estresse (TABELA 11).

O DPPH tem sido usado como um radical livre para avaliar substâncias redutoras e é um reagente útil para investigar as atividades de eliminação de radicais livres (EL BAKY et al., 2010). O alto valor de DPPH (TABELA 12) na média das duas cultivares tratadas com *AQE* 2,5 mg L⁻¹, indica um alto grau de eliminação do radical DPPH e alta capacidade antioxidante da biomassa da microalga, corroborando o estudo de Hajimahmoohi et al. (2010), que identificaram a atividade antioxidante de 12 microalgas na eliminação do DPPH.

As enzimas antioxidantes são importantes mecanismos de respostas aos estresses e auxiliam na eliminação das EROs. Verificou-se que as plantas do controle sem imposição de salinidade apresentam baixa atividade das enzimas antioxidantes, enquanto a maior atividade, principalmente de POD e SOD, ocorreu nas plantas expostas a maior salinidade (TABELA 13). Resultado também encontrado por Batista-Silva et al. (2018) em *arabidopsis*, com a atividade das enzimas antioxidantes aumentada após períodos de estresses salino.

A SOD atua na primeira etapa de eliminação das EROs por meio de $O_2^{\bullet -}$ - dismutação em O_2 e H_2O_2 ; e outras enzimas, como CAT, eliminam as moléculas de H_2O_2 (SHARMA et al., 2012). O equilíbrio entre SOD e H_2O_2 é crucial para prevenir o acúmulo de EROs (CAVERZAN et al., 2016).

Observou-se que a atividade das enzimas antioxidantes nas folhas de soja submetidas à salinidade foi influenciada por *AQE*. A dose de 1,5 mg L⁻¹ apresentou aumento significativo da atividade da POD e SOD na maior concentração salina para ambas as cultivares, e da CAT em 60 mmol L⁻¹ para a cultivar Lança.

Os níveis da atividade antioxidante foram elevados com a aplicação de *AQE*, levando em conta que os aminoácidos são componentes importantes dos sistemas antioxidantes das plantas. A ação dessas moléculas envolve a redução de radicais livres e osmoproteção (GILL e TUTEJA, 2010). Resultados semelhantes foram encontrado por Teixeira et al. (2017), com aplicação exógena de alguns aminoácidos em plantas de soja, aumentando a atividade das enzimas antioxidantes (POD, SOD e CAT) e reduzindo a peroxidação lipídica.

Os aminoácidos atuam por meio de sinais de expressão gênica, que resultam na síntese proteica; a partir desta, ocorre a alteração dos níveis hormonais, que desencadeará uma atividade enzimática, causando alterações bioquímicas e estruturais fundamentais para o desenvolvimento das plantas (CASTRO et al., 2019), como observado com o uso de *AQE*.

Tratamentos à base de aminoácidos aumentam consideravelmente a biossíntese de solutos osmóticos em estresse salino. Esses osmólitos podem reduzir a pressão osmótica do citoplasma e aumentar o fluxo de água para os diferentes órgãos e tecidos da planta. Isso pode indicar que os aminoácidos podem aliviar o estresse salino, seja via ajuste osmótico ou conferindo resistência à dessecação às células da planta (SADAK et al., 2015).

O efeito da aplicação de *AQE* nas sementes para mitigação do estresse salino em plantas da soja fica bem caracterizado. O incremento de aminoácidos livres totais nas folhas e raízes, bem como prolina nas folhas aliada ao acúmulo de açúcares não redutores, e aumento da atividade antioxidante com incrementos na POD, SOD e CAT e redução da DPPH, foram responsáveis pelo aumento da parte área, área foliar e crescimento das raízes das plantas de soja submetidas ao estresse salino. Soma-se a isso o aumento no número de nódulos em plantas controle e o aumento do diâmetro dos nódulos na maior salinidade em comparação as plantas sem tratamento, que demonstram a eficiência do uso da biomassa da microalga *A. quadricellulare*

em promover o crescimento e potencializar o metabolismo antioxidante, mitigando os efeitos danosos do estresse salino.

3.5 CONCLUSÕES

- A salinidade afeta negativamente a germinação e as plântulas de soja a partir de 60 mmol L⁻¹ de NaCl, e a aplicação via sementes da biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) como fonte de aminoácidos livres pode mitigar os efeitos da salinidade.
- As doses 1,5 e 2,5 mg L⁻¹ da biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) como fonte de aminoácidos livres são eficazes para mitigar os danos no desenvolvimento das plantas de soja em condições de salinidade ao estimular o sistema antioxidante e o acúmulo de osmólitos no tecido vegetal.
- Em condição sem salinidade, a aplicação da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) promoveu o aumento do teor relativo de clorofila, da massa seca da parte aérea, do comprimento das raízes, aumento do número, volume e diâmetro dos nódulos, e aumento de aminoácidos e proteínas nas folhas.
- Pode-se relacionar o conteúdo de aminoácidos presentes na biomassa de *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) com o incremento no conteúdo de aminoácidos livres totais, prolina, proteínas nas folhas de soja e aumento da atividade das enzimas antioxidantes POD, SOD e CAT, sendo assim, considera-se eficiente o uso da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) obtida em sistema mixotrófico como fonte de aminoácidos livres bioativos para biofertilizantes.

3.6 AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A Alltech® Crop Sciences – Brasil pelo fornecimento da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) e apoio financeiro - Projeto Funpar - 03568.

REFERÊNCIAS

- AGWA, O. K.; OGUGBUE, C. J.; WILLIAMS, E. E. Growth promotion of *Telfairia occidentalis* by application of *Chlorella vulgaris* (bioinoculant) colonized seeds and soil under tropical field conditions. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 3, 2018.
- ALI, Q.; ATHAR, H.R.; HAIDER, M. Z.; SHAHID, S.; ASLAM, N.; SHEHZAD, F.; NASEEM, J.; ASHRAF, R.; ALI, A.; HUSSAIN, S. M. Role of Amino Acids on Improving Abiotic Stress Tolerance to Plants. **Plant Tolerance to Environmental Stress**, p. 175-204, 2019.
- ALMEIDA, A. Q.; SORATTO, R. P.; BROETTO, F.; CATANEO, A. C. Nodulação, aspectos bioquímicos, crescimento e produtividade do feijoeiro em função da aplicação de bioestimulante. **Semina Ciências Agrárias**, v. 35, p. 77-88, 2014.
- ALVES, F. L.; PONTE, L. F. A.; FERREIRA-SILVA, S. L.; MAIAS, J. M.; SILVEIRA, J. A. G. Germinação e estabelecimento de plântulas de cajueiro-anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) em função da salinidade. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 197-204, 2013.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant science**, v.166, p. 3-16, 2004.
- ARORA, M.; KAUSHIK, A.; RANI, N.; KAUSHIK, C. P. Effect of cyanobacterial exopolysaccharides on salt stress alleviation and seed germination. **Journal of Environmental Biology**, v. 31, p. 701-704, 2010.
- BALDO, R.; QUINTÃO, S. P.; ROSAS, Y. B. C. J.; MUSSURY, R. M.; BETONI, R. E BARRETO, W.S. Comportamento do algodoeiro cultivar Delta Opal sob estresse hídrico com e sem aplicação de bioestimulante. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p.1804-1812, 2009.
- BARONE, V.; BAGLIERI, A.; STEVANATO, P.; BROCCANELLO, C.; BERTOLDO, G.; BERTAGGIA, M.; CAGNIN, M.; MOLITERNI, V. M. C.; MANDOLINO, G.; FORNASIER, F.; SQUARTINI, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n.2, 2018.
- BATES, L. S.; WALDERN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil, The Hague**, v. 39, p. 205-07, 1973.
- BATISTA-SILVA, W.; HEINEMANN, B.; RUGEN, N.; NUNES-NESI, A.; ARAUJO, W. L.; BRAUN, H. P.; HILDEBRANDT, T. M. The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. **Plant Cell Environ**, v. 42, p. 1630-1644, 2018.

BAYUELO-JIMENEZ, J. S.; JASSO-PLATA, N.; OCHOA, I. Growth and physiological responses of *Phaseolus* Species to salinity stress. **International Journal of Agronomy**, v. 2012, 13 p., 2012.

BRADFORD, M. M.. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254. 1976.

BRAND-WILLIAMS, W. CUVELIER, M.E. BERSET, C; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, v.28, p.25-30, 1995.

BOROWITZKA, M.A. High-value products from microalgae – their development and commercialisation. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, p. 743-756, 2013.

BUTT, M.; AYYUB, C.M.; AMJAD, M.; AHMAD, R. Proline application enhances growth of chilli by improving physiological and biochemical attributes under salt stress. **The Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53 p. 43–49, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Secretária de Defesa Agropecuária. Brasília, DF, Brasil. 2009. 399p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 61, de 8 de julho de 2020. Estabelece as regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes, destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, out. 2011. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-61-de-8-de-julho-de-2020-266802148>

CASTRO, P. R. C. e; CAMPOS, G. R.; CARVALHO, M. E. A. Biorreguladores e bioestimulantes agrícolas. Piracicaba: ESALQ, 74 p., 2019.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. In: SHANKER, A. K.; SHANKER, C. **Abiotic and biotic stress in plants- recentes advances and future perspectives**. p. 463-480, 2016.

CELIK, O.; ATAÇ, C. The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. **Turk Journal Biology**, v. 36, p.339-356, 2012.

CORTES-JIMENEZ, D.; GÓMEZ-GUZMÁN, A.; ITURRIAGA, G.; SUÁREZ, R.; ALPIREZ, G. M.; ESCALANTE, F. M. E. Microorganisms associated to tomato seedlings growing in saline culture act as osmoprotectant. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 613-620, 2014.

EL-BAKY, H. H.; EL-BAZ, F. K.; EL-BAROTY, G. S. Enhancing antioxidant availability in wheat grains from plants grown under seawater stress in response

to microalgae extract treatments. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 299-303, 2010.

EL-ARROUSSI, H.; EL-MERNISSI, N.; BENHIMA, R.; MEFTAH, E. L.; KADMIRI, I.; BENDAOU, N.; SMOUNI, A.; WAHBY, I. Microalgae polysaccharides a promising plant growth biostimulant. **Journal of Algal Biomass**, v. 7, p.55-63, 2016.

EL-ARROUSSI, H; ELBAOUCHI, A.; BENHIMA, R.; BENDOU, N.; SMOUNI, A.; WAHBY, I. Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. under salt stress. **Acta Horticulturae**, 2018.

EL NAGGAR, N. E. I. A.; HUSSEIN, M. H.; SHAABAN-DESSUUKI, S. A.; DALAL, S. R. Production, extraction and characterization of *Chlorella vulgaris* soluble polysaccharides and their applications in AgNPs biosynthesis and biostimulation of plant growth. **Scientific Reports**, v.10, 2020.

EL-SHEIKH, E. A. E.; WOOD, M. Nodulation and N_2 fixation by soybean inoculated with salt-tolerant rhizobia or salt-sensitive bradyrhizobia in saline soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.657–661, 1995.

FARHANGI-ABRIZ, S.; GHASSEMI-GOLEZANI, K. Improving amino acid composition of soybean under salt stress by salicylic acid and jasmonic acid. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v.89, p. 243-248, 2016.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 11 p., 1977.

FELLNER, M.; ZHANG, R.; PHRIS, R.P.; SAWHNEY, V.K.; Reduced de-etiolation of hypocotyl growth in a tomato mutant is associated with hypersensitivity to, and high endogenous levels of, abscisic acid, **Journal of Experimental Botany**. v. 52, p. 725–738, 2001.

GARCIA-GONZALES, J.; SOMMERFELD, M. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*, **Journal of Applied Phycology**, v.28, p. 1051-1061, 2016.

GILL, S. S.; TUJETA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p. 909-930, 2010.

GRESSHOFF, P. M.; HAYASHI, S.; BISWAS, B.; MIRZAEI, S.; INDRASUMUNAR, A.; REID, D.; SAUMEL, S.; TOLLENAERE, A.; NAHAMEREN, B.; HASTWELL, A.; SCOTT, P.; FERGUSON, B. J. The value of biodiversity in legume symbiotic nitrogen fixation and nodulation for biofuel and food production. **Journal Plant Physiology**, v. 172, p. 128-136, 2014.

HAJIMAHODI, M.; FARAMARZI, M. A.; MOHAMMADI, N.; SOLTANI, N.; OVESI, M. R.; NAFISSI-VARCHEH. Evaluation of antioxidant properties and

total phenolic contents of some strains of microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, p. 43-50, 2010.

HASHEN, A.; ABD-ALLAH, E. F.; ALQARAWI, A. A.; WIRTH, S.; EGAMBERDIEVA, D. Comparing symbiotic performance and physiological responses of two soybean cultivars to arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 26, p. 38-48, 2019.

HERNANDEZ-HERRERA, R. M.; SANTACRUZ-RUVACABA, F.; RUIZ-LOPEZ, M. A. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Applied Phycology**, v.26, p.619-628, 2014.

HILDEBRANDT, T. M.; NESI, A. N.; ARAUJO, W.; BRAUN, H. P. Amino Acids Catabolism in Plants. **Molecular Plant**, v.8, p. 1563-1579, 2015.

IBRAHIM, W. M. Potential impact of marine algal extracts on the growth and metabolic activities of salinity stresses wheat seedling. **Journal of Applied Science**, v., 16, p. 388-394, 2016.

KUMAR, G.; SAHOO, D. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 251-255, 2011.

KUSVURAN, A.; CAN, A. G. Effects of microalga (*Chlorella vulgaris* Beijerinck) on secondary metabolites and antioxidative defense system improve plant growth and salt tolerance in guar [*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.]. **Legume Research**. v. 43, p. 56-60, 2019.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p.350-382, 1987.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. F4.3.1-F4.3.8. 2001.

LUCINI, L.; ROUPHAEL, Y.; CARDARELLI, M.; CANAGUIER, R.; KUMAR, P.; COLLA, G. The effect of a plant-derived biostimulant on metabolic profiling and crop performance of lettuce grown under saline conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 182, p. 124-133, 2015.

MALDONADE, I. R.; CARVAHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. Protocolo para a Determinação de Açúcares Totais em Hortaliças pelo Método de DNS. **Comunicado Técnico, EMBRAPA**, v. 85, p. 1-4. 2013.

MARQUES, E. C.; FREITAS, V. S.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.4, p.993-999, 2011.

MAGNÉ, C.; LARHER, F. High sugar content interferes with colorimetric Determination of amino acids and free proline. **Analytical Biochemistry**, v. 200, p.115-118. 1992.

MÓGOR, A. F.; BARBIZAN, T. ; PAULETTI, V. ; OLIVEIRA, J. ; BETTONI, M.M. . Teores de clorofila em cultivares de tomateiro submetidas a aplicações foliares de magnésio. *Pesquisa Agropecuária Tropical* (Online), v. 43, p. 363-369, 2013.

MÓGOR, A. F.; ÖRDÖG, V.; LIMA, G. P. P.; MOLNÁR, Z.; MÓGOR, G. Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines. ***Journal of Applied Phycology***, v. 30, p. 453–460, 2017.

MUNOZ-ROJAS, M.; CHILTON, A.; LIYANAGEM G. S.; ERICKSON, T. E.; MERRITT, D. J.; NEILAN, B. A.; OOI, M. K. J. Effects of indigenous soil cyanobacteria on seed germination and seedling growth of arid species used in restoration. ***Plant and Soil***, v. 492, p. 91-100, 2018.

OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, M. K. T.; LIMA, L. A.; ALVES, R. C.; REGIS, L. R. L.; SANTOS, S. T. Estresse salino e biorregulador vegetal em feijão caupi. ***Irriga***, v. 22, p. 314-329, 2017.

PER, T. S.; KHAN, N. A.; REDDY, P. S.; MASOOD, A.; HASANUZZAMAN, M.; KHAN, M. I. R.; ANJUM, N. A. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and Transgenics. ***Plant Physiology and Biochemistry***, v.115, p.126-140, 2017.

POMPELLI, M. P.; FRANÇA, S. C.; TIGRE, R. C.; OLIVEIRA, M. T.; SACILOT, M.; PEREIRA, E. C. Spectrophotometric determinations of chloroplastidic pigments in acetone, ethanol and dimethylsulphoxide. ***Revista Brasileira de Biociências***, v. 11, n.1, p. 52-58, 2013.

SADAK, M. S. H.; ABDELHAMID, M. T.; SCHMIDHALTER, U. Effect of foliar application of amino acids on plant yield and some physiological parameters in bean plants irrigated with seawater. ***Acta Biológica Colombiana***, v. 20, p. 141-152, 2015.

SALES, M. A. de L.; MOREIRA, F. J. C.; RIBEIRO, A. A.; MONTEIRO, R. N. F. Potential of pumpkin seeds under different soaking periods. ***Revista Brasileira de Biosistemas***, v. 9, p. 289-297, 2015.

SHARMA, H.S.S; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J.R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. ***Journal of applied Phycology***, v. 26, n.1, p. 465-490, 2014.

SINGH, D.P.; KHATTAR, J.S.; RAJPUT, A.; CHAUDHARY, R.; SINGH, R. High production of carotenoids by the green microalga *Asterarcys quadricellulare* PUMCC 5.1.1 under optimized culture conditions. ***PLoS ONE*** v.14, n.9, 2019.

SOARES, L. H.; TEIXEIRA, W. F.; DOURADO-NETO, D. Soybean seed treatment with micronutrients, hormones, and amino acids on physiological characteristics of plants. ***African Journal of Agricultural Research***, v. 11, p. 3314-3319, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed., Artmed, 918 p., 2013.

TARRAF, S.; TALAAT, I. M.; EL-SAYED, A. E. K.; BALBAA, L. K. Influence of foliar application of algae extract and amino acids mixture on fenugreek plant in sandy and clay soils. **NusantBiosci**, v. 7, p. 33-37, 2015.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, n. 1, p. 65-72, 2000.

TEIXEIRA, W. F.; FARGAN, E. B.; SOARES, L. H.; UMBURANAS, R. C.; RELCHARDT, K.; NETO, D. D. Foliar and Seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, article 327, 2017.

TZIN, V., GALILI, G. New insights into the shikimate and aromatics amino acids biosynthesis pathway in plants. **Molecular Plant**, v.3, p. 959-972, 2010.

VARHNEYA, P.; BEARDALLE, J.; BHATTACHARYAF, S.; WANGIKARB, P.P. Isolation and biochemical characterisation of two thermophilic green algal species- *Asterarcys quadricellulare* and *Chlorella sorokiniana*, which are tolerant to high levels of carbon dioxide and nitric oxide. **Algal Research**, v. 30, p. 28–37, 2018.

WINTERS, A. L.; LLOYD, J. D.; JONES, R.; MERRY, R. J. Evaluation of a rapid method for estimating free amino acids in silages. **Animal feed science and technology**, v.99, n.1, p.177-187. 2002.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por se tratar de um assunto recente na agricultura, ainda são escassos na literatura trabalhos utilizando sementes de grandes culturas e aplicação de microalgas para mitigação de estresse salino, embora seja um assunto promissor, com resultados que evidenciam a eficiência do uso de biomassa rica em substâncias antioxidantes e aminoácidos, como os quantificados no presente trabalho com o uso da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) obtida em sistema mixotrófico para a mitigação do estresse salino .

Outra possibilidade para continuidade de pesquisas seria a avaliação de diferentes formas de utilização da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1), como a aplicação via sementes seguida de aplicações foliares em diferentes estádios de desenvolvimento da soja.

Vale ressaltar, que o uso da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) apresentou efeito de sinalização, ou seja, estimulou nas plantas os mecanismos de defesa antioxidante e a síntese de substâncias protetoras, como é o caso de aminoácidos livres, prolina e açúcares não redutores.

REFERÊNCIAS

ABASTECIMENTO (CONAB). **Soja**, Safra 2018/2019. Sexto Levantamento, 2019.

ABD ELHAFIZ, A.; ABD ELHAFIZ, A.; GAUR, S. S.; HAMDANY, N.; OSMAN, M.; LAKSHMI, T. V. R. *Chlorella vulgaris* and *Chlorella pyrenoidosa* live cells appear to be promising sustainable biofertilizer to grow rice, lettuce, cucumber and eggplant in the UAE soils. **Recent Research in Science and Technology**, v. 7, p. 14-21, 2015.

ACIEN, F. G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; MOLARES-AMARAL, M. M.; FERNANDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E. Wastewater treatment using microalgae: How realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 9013-9022, 2016.

AGWA, O. K.; OGUGBUE, C. J.; WILLIAMS, E. E. Growth promotion of *Telfairia occidentalis* by application of *Chlorella vulgaris* (bioinoculant) colonized seeds and soil under tropical field conditions. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 3, 2018.

AHANGER, M. A., TOMAR, N. S., TITTAL, M., ARGAL, S., AGARWAL, R. Plant growth under water/salt stress: ROS production: antioxidants and significance of added potassium under such conditions. **Physiology and Molecular Biology Plants**, v. 23, p. 731–744, 2017.

AHMED, H. E. S.; SAYED, E. Influence of NaCl and NaSO₄ treatments on growth development of broad bean (*Vicia faba* L.) plant. **Journal Life Science**, v.5, p. 513-523, 2011.

AKGUL, F. Effect of *Spirulina plantesis* geitler extract on seed germination of wheat and barley. **Alinteri Journal of Agriculture Sciences**, v. 34, n. 2, p. 148-153, 2019.

ALI, Q.; ATHAR, H.R.; HAIDER, M. Z.; SHAHID, S.; ASLAM, N.; SHEHZAD, F.; NASEEM, J.; ASHRAF, R.; ALI, A.; HUSSAIN, S. M. Role of Amino Acids on Improving Abiotic Stress Tolerance to Plants. **Plant Tolerance to Environmental Stress**, p. 175-204, 2019.

ALMEIDA, A. Q.; SORATTO, R. P.; BROETTO, F.; CATANEO, A. C. Nodulação, aspectos bioquímicos, crescimento e produtividade do feijoeiro em função da aplicação de bioestimulante. **Semina Ciências Agrárias**, v. 35, p. 77-88, 2014.

ALVES, F. L.; PONTE, L. F. A.; FERREIRA-SILVA, S. L.; MAIAS, J. M.; SILVEIRA, J. A. G. Germinação e estabelecimento de plântulas de cajueiro-anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) em função da salinidade. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 197-204, 2013.

ALQARAWI, A. A.; ABD-ALLAH, E.F.; HASHEM, A. Alleviation of salt-induced adverse impact via mycorrhizal fungi in *Ephedra aphylla* Forssk. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, p. 802-810, 2014.

ARORA, M.; KAUSHIK, A.; RANI, N.; KAUSHIK, C. P. Effect of cyanobacterial exopolysaccharides on salt stress alleviation and seed germination. **Journal of Environmental Biology**, v. 31, p. 701-704, 2010.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant science**, v.166, p. 3-16, 2004.

BALDO, R.; QUINTÃO, S. P.; ROSAS, Y. B. C. J.; MUSSURY, R. M.; BETONI, R. E BARRETO, W.S. Comportamento do algodoeiro cultivar Delta Opal sob estresse hídrico com e sem aplicação de bioestimulante. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p.1804-1812, 2009.

BARONE, V.; BAGLIERI, A.; STEVANATO, P.; BROCCANELLO, C.; BERTOLDO, G.; BERTAGGIA, M.; CAGNIN, M.; MOLITERNI, V. M. C.; MANDOLINO, G.; FORNASIER, F.; SQUARTINI, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n.2, 2018.

BARONE, V.; PUGLISI, I.; FRAGALÁ, F.; PIERO, A. R.; GIUFFRIDA, F.; BAGLIERI, A. Novel bioprocess for the cultivation of microalgae in hydroponic growing system of tomato plants. **Journal of Applied Phycology**, v.31, p. 465 – 470, 2019.

BATES, L. S.; WALDERN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil, The Hague**, v. 39, p. 205-07, 1973.

BATISTA-SILVA, W.; HEINEMANN, B.; RUGEN, N.; NUNES-NESI, A.; ARAUJO, W. L.; BRAUN, H. P.; HILDEBRANDT, T. M. The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. **Plant Cell Environ**, v. 42, p. 1630-1644, 2018.

BAUDET, L.; PESKE, S. T. Aumentando o desempenho das sementes. **Seed News**, v.9, n.5, p. 22-24, 2007.

BAYUELO-JIMENEZ, J. S.; JASSO-PLATA, N.; OCHOA, I. Growth and physiological responses of *Phaseolus* Species to salinity stress. **International Journal of Agronomy**, v. 2012, 13 p., 2012.

BERTAGNOLLI, C. M.; CUNHA, C. dos S. M.; MENEZES, S. M. de; MORAES, D. M.; LOPES, N. F. ; ABREU, C. M. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de soja submetidas ao estresse salino. **Revista Brasileira Agrocência**, v. 10, n. 3, p. 287-291, 2004.

BEZERRA, A. R. G.; SILVA, F. C. S.; SILVA, A. F.; ALVARES, C. H. A.; SEDIYAMA, T. Effects of biostimulants and seed treatment with fungicide on

the germination and vigor of soybean seedling. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v.8, p.27-35, 2015.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, ed. 2, 445p., 1994.

BINSFELD, J.A; BARBIERI, A.P.P; HUTH, C.; CABRERA, I.C; HENNING, L.M.M. Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.44, n.1, p.88-94, 2014.

BOROWITZKA, M.A. High-value products from microalgae – their development and commercialisation. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, p. 743-756, 2013.

BRADFORD, M. M.. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254. 1976.

BRAND-WILLIAMS, W. CUVELIER, M.E. BERSET, C; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, v.28, p.25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Secretária de Defesa Agropecuária. Brasília, DF, Brasil. 2009. 399p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 61, de 8 de julho de 2020. Estabelece as regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes, destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, out. 2011. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-61-de-8-de-julho-de-2020-266802148>

BUMANDALAI, O.; TSERENNADMID, R. Effect of Chlorella vulgaris as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds. **International Journal of Aquatic Biology**, v. 7, p. 95-99, 2019.

BUTT, M.; AYYUB, C.M.; AMJAD, M.; AHMAD, R. Proline application enhances growth of chilli by improving physiological and biochemical attributes under salt stress. **The Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53 p. 43–49, 2016.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. In: SHANKER, A. K.; SHANKER, C. **Abiotic and biotic stress in plants- recentes advances and future perspectives**. p. 463-480, 2016.

CASTRO, G. S. A. et al. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n. 10, p. 311-318, 2008.

CASTRO, P. R. C. e; CAMPOS, G. R.; CARVALHO, M. E. A. Biorreguladores e bioestimulantes agrícolas. Piracicaba: ESALQ, 74 p., 2019.

CELIK, O.; ATAK, C. The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. **Turk Journal Biology**, v. 36, p.339-356, 2012.

CHEN, H.; CUI, S.; FU, S.; GAI, J.; YU, D. Identification of quantitative trait loci associated with salt tolerance during seedling growth in soybean (*Glycine max* L.), **Australian Journal of Agricultural Research**., v.59, p. 1086-1091, 2008.

CORTES-JIMENEZ, D.; GÓMEZ-GUZMÁN, A.; ITURRIAGA, G.; SUÁREZ, R.; ALPIREZ, G. M.; ESCALANTE, F. M. E. Microorganisms associated to tomato seedlings growing in saline culture act as osmoprotectant. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 613-620, 2014.

DANTAS, A. C. V. L.; QUEIROZ, J. M. O.; VIEIRA, E. L.; ALMEIDA, V. O. Effect of gibberellic acid and the bioestimulant Stimulate® on the initial growth of thamarind. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 34, n. 1, p. 8-14, 2012.

DEINLEIN, U.; STEPHAN, A.B.; HORIE, T.; LUO, W.; XU, G.; SCHROEDER, J. **Plant salt-tolerance mechanisms. Trends Plant Science**, v.19, pp. 371-379, 2014.

DELGADO, M.J.; LIGERO, F.; LIUCH, C. Effects of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea, fababean, common bean and soybean plant. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.371–376, 1994.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F (Ed). **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, c. 9, p. 129-141, 2010.

EL-ARROUSSI, H.; EL-MERNISSI, N.; BENHIMA, R.; MEFTAH, E. L.; KADMIRI, I.; BENDAOU, N.; SMOUNI, A.; WAHBY, I. Microalgae polysaccharides a promising plant growth biostimulant. **Journal of Algal Biomass**, v. 7, p.55-63, 2016.

EL-ARROUSSI, H; ELBAOUCHI, A.; BENHIMA, R.; BENDOU, N.; SMOUNI, A.; WAHBY, I. Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. under salt stress. **Acta Horticulturae**, 2018.

EL NAGGAR, N. E. I. A.; HUSSEIN, M. H.; SHAABAN-DESSUUKI, S. A.; DALAL, S. R. Production, extraction and characterization of *Chlorella vulgaris* soluble polysaccharides and their applications in AgNPs biosynthesis and biostimulation of plant growth. **Scientific Reports**, v.10, 2020.

EL-BAKY, H. H.; EL-BAZ, F. K.; EL-BAROTY, G. S. Enhancing antioxidante availability in wheat grains from plants grown under seawater stress in response

to microalgae extract treatments. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 299-303, 2010.

EL-SHEIKH, E. A. E.; WOOD, M. Nodulation and N_2 fixation by soybean inoculated with salt tolerant rhizobia or salt sensitive bradyrhizobia in saline soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.657–661, 1995.

EMBRAPA. **Dados econômicos da soja**. Brasília, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acessado em 12 de mar. 2020.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil**, Londrina: Embrapa Soja, 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/95489/1/SP-16-online.pdf>. Acessado em 23 de abr. 2020

FAHAD, S., HUSSAIN, S., MATLOOB, A., KHAN, F. A., KHALIQ, A., SAUD, S. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. **Plant Growth Regulation**, v. 75, p. 391–404, 2015.

FAO. **Status of the world's soil resources**, 2015.

FARHANGI-ABRIZ, S.; GHASSEMI-GOLEZANI, K. Improving amino acid composition of soybean under salt stress by salicylic acid and jasmonic acid. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v.89, p. 243-248, 2016.

FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; WAKEEL, A.; SIDDIQUE, K. H. M. Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms and management, a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p.461-481, 2015.

FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, p. 81-102, 2017.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 11 p., 1977.

FELLNER, M.; ZHANG, R.; PHRIS, R.P.; SAWHNEY, V.K.; Reduced de-etiolation of hypocotyl growth in a tomato mutant is associated with hypersensitivity to, and high endogenous levels of, abscisic acid, **Journal of Experimental Botany**. v. 52, p. 725–738, 2001.

FERREIRA, S. P.; SOUZA-SOARES, Leonor de; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 275-287, 2013.

FRANÇA-NETO, J. Evolução do conceito da qualidade das sementes. **Seed News**, v. 1, n. 1, p.1-1, 2016.

GARCIA-GONZALES, J.; SOMMERFELD, M. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*, **Journal of Applied Phycology**, v.28, p. 1051-1061, 2016.

GARCÍA, J. M. R.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; SEVILLA, J. M. F. Development of a process for the production of L-amino acids concentrates from microalgae by enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 164-170, 2012.

GARG, N.; MANCHANDA, G. ROS Generation in Plants: Boon or Bane? **Plant Biosystems**, v. 143, p. 8-96, 2009.

GILL, S. S.; TUJETA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p. 909-930, 2010.

GREGORY, P. J., ISMAIL, S., RAZAQ, I. B., WAHBI, A. Soil salinity: current status and in depth analyses for sustainable use. **International Atomic Energy Agency**, c. 2, 2018.

GRESSHOFF, P. M.; HAYASHI, S.; BISWAS, B.; MIRZAEI, S.; INDRASUMUNAR, A.; REID, D.; SAUMEL, S.; TOLLENAERE, A.; NAHAMEREN, B.; HASTWELL, A.; SCOTT, P.; FERGUSON, B. J. The value of biodiversity in legume symbiotic nitrogen fixation and nodulation for biofuel and food production. **Journal Plant Physiology**, v. 172, p. 128-136, 2014.

GUZMAN-MURILLO, M. A.; ASCENCIO, F.; LARRINAGA-MAYORA, J. A. Germination and ROS detoxification in bell pepper (*Capsium annuum* L.) under NaCl stress and treatment with microalgae extracts. **Protoplasma**, v. 250, p.33-42, 2013.

HAFFANI, S.; MENZI, M.; SLAMA, I.; KSONTINI, M. Plant growth, water relations and proline content of three vetch species under water-limited conditions. **Grass and Forage Science**, v. 69, 2014.

HAJIMAHODI, M.; FARAMARZI, M. A.; MOHAMMADI, N.; SOLTANI, N.; OVESI, M. R.; NAFISSI-VARCHEH. Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, p. 43-50, 2010.

HASHEN, A.; ABD-ALLAH, E. F.; ALQARAWI, A. A.; WIRTH, S.; EGAMBERDIEVA, D. Comparing symbiotic performance and physiological responses of two soybean cultivars to arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 26, p. 38-48, 2019.

HERMES, E. C. K.; NUNES, J.; NUNES, J. V. D. Influência do bioestimulante no enraizamento da soja. **Revista Cultivando o Saber**. Edição especial, p.-35-45, 2015.

HERNANDEZ-HERRERA, R. M.; SANTACRUZ-RUVACABA, F.; RUIZ-LOPEZ, M. A. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Applied Phycology**, v.26, p.619-628, 2014.

HIRAKURI, M. H. LAZZAROTTO, J. J. O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina - PR: **Embrapa Soja**, p.70, 2014.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v.39, p.88-93, 2003.

HOLANDA FILHO, R. S. F. et al. Água salina nos atributos químicos do solo e no estado nutricional da mandioqueira. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 1, p. 60-66, 2011.

HUSSAIN, A.; HASNAIN, S. Phytostimulation and biofertilization in wheat by cyanobacteria. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, p. 85-92, 2011.

IBRAHIM, W. M. Potential impact of marine algal extracts on the growth and metabolic activities of salinity stresses wheat seedling. **Journal of Applied Science**, v., 16, p. 388-394, 2016.

JARDIN, P. Du; Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.

KAMYAB, H.; DIN, M. F. M.; PONRAJ, M.; KEYVANFAR, A., REZANIA, S; TAIB, S. M.; MAJID, M. Z. A. Isolation and screening of microalgae from agro-industrial wastewater for biomass and biodiesel sources. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 60, p. 29118-29125, 2016.

KHAN, A.; KHAN, A.L.; MUNEER, S.; KIM, Y-H.; AL-RAWAHI; AL-HARRASI, A. Silicon and Salinity: Crosstalk in Crop-Mediated Stress Tolerance Mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019.

KHAN, H.A.; SIDDIQUE, K.H.M.; COLMER, T.D. **Salt sensitivity in chickpea is determined by sodium toxicity**. *Planta*, v. 244, p. 623-637, 2016.

KUMAR, G.; SAHOO, D. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 251-255, 2011.

KUMARI, R.; KAUR, I.; BHATNAGAR, A. K. Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 623-633, 2011.

KUSVURAN, A.; CAN, A. G. Effects of microalga (*Chlorella vulgaris* Beijerinck) on secondary metabolites and antioxidative defense system improve plant growth and salt tolerance in guar [*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.]. **Legume Research**. v. 43, p. 56-60, 2019.

LIMA, I. P.; BRUZI, A. T.; BOTELHO, F. B. S.; ZAMBIAZZI, E. V.; SOARES, I. O.; ZUFFO, A. M. Performance of Conventional and Transgenic Soybean Cultivars in the South and Alto Paranaíba Regions of Minas Gerais, Brazil. **American Journal Plant Science**, v. 6, p. 1385-1390, 2015.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p.350-382, 1987.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV–VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. F4.3.1–F4.3.8. 2001.

LUCINI, L.; ROUPHAEL, Y.; CARDARELLI, M.; CANAGUIER, R.; KUMAR, P.; COLLA, G. The effect of a plant-derived biostimulant on metabolic profiling and crop performance of lettuce grown under saline conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 182, p. 124–133, 2015.

MACHADO, L. **Inoculação de sementes de soja** – um fator determinante no sucesso da lavoura. Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes. Lavras, 2013. Entrevista.

MAGNÉ, C.; LARHER, F. High sugar content interferes with colorimetric Determination of amino acids and free proline. **Analytical Biochemistry**, v. 200, p.115–118. 1992.

MALDONADE, I. R.; CARVAHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. Protocolo para a Determinação de Açúcares Totais em Hortaliças pelo Método de DNS. **Comunicado Técnico, EMBRAPA**, v. 85, p. 1-4. 2013.

MARQUES, E. C.; FREITAS, V. S.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.4, p.993-999, 2011.

MARQUES, M. E. R.; SIMONETTI, A. P. M.; ROSA, H. A. Aspectos produtivos do uso de bioestimulantes na cultura da soja. **Acta Iguazu**, v.3, n.4, p.155-163, 2014.

MÓGOR, A. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; MÓGOR, G. Aplicação foliar de extrato de alga, ácido L- glutâmico e cálcio em feijoeiro. **Scientia Agrária**. v.9, p.431-437, 2008.

MÓGOR, A. M. Interfaces entre legislação, pesquisa científica e mercado de bioestimulantes. **Anais do I Simpósio Latino-americano sobre Bioestimulantes na Agricultura**, v. 01, p. 24-27. 2017. Disponível em: <http://www.bioestimulantes.ufsc.br/files/2017/11/Anais-I-Simp%C3%B3sio-Latino-Americano-sobre-Bioestimulantes-na-Agricultura-SLABA-2017.pdf>. Acesso em: 29 de junho de 2019.

MÓGOR, A. F.; AMATUSSI, J. O.; MÓGOR, G.; LARA, G. B. Bioactivity of cyanobacterial biomass related to amino acids induces growth and metabolic changes on seedlings and yield gains of organic red beet. **American Journal of Plant Science**, v. 9, p. 966–978, 2018. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.95074>

MÓGOR, A. F.; ÖRDÖG, V.; LIMA, G. P. P.; MOLNÁR, Z.; MÓGOR, G. Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 453–460, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1242-z>.

MÓGOR, A. F.; BARBIZAN, T. ; PAULETTI, V. ; OLIVEIRA, J. ; BETTONI, M.M. . Teores de clorofila em cultivares de tomateiro submetidas a aplicações foliares de magnésio. *Pesquisa Agropecuária Tropical* (Online), v. 43, p. 363-369, 2013.

MONTANHIM, G. C. Uso de biomassa de algas para a peletização de sementes de *Bowdichia virgilioides* Kunth. **Revista Árvore**, v. 38, n. 5, p. 867-877, 2014.

MORAES, J.; AZEVEDO, P. Biostimulants: identification of regulatory challenges and proposals to make this agri-input viable in Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 1148, p.101-104, 2016.

MUNIZ, F.R.; CARDOSO, M.G.; VON PINHO, E.V.R.; VILELA, M. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p.195-204, 2007.

MUNOZ-ROJAS, M.; CHILTON, A.; LIYANAGEM G. S.; ERICKSON, T. E.; MERRITT, D. J.; NEILAN, B. A.; OOI, M. K. J. Effects of indigenous soil cyanobacteria on seed germination and seedling growth of arid species used in restoracion. **Plant and Soil**, v. 492, p. 91-100, 2018.

MØLLER, I.M.; JENSEN, P.E. & HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.

NEGRÃO, S. SCHMÖCKEL, S. M, TESTER, M. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. **Annals of Botany**, v. 119, p. 1-11, 2016.

NUNES, J. L. da S. **Características da Soja (*Glycine max*)**. Agrolink, 2016.

OLAIZOLA, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. **Biomolecular Engineering**, v. 20, p. 459-466, 2003.

OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, M. K. T.; LIMA, L. A.; ALVES, R. C.; REGIS, L. R. L.; SANTOS, S. T. Estresse salino e biorregulador vegetal em feijão caupi. **Irriga**, v. 22, p. 314-329, 2017.

PAK, V. A.; NABIPOUR, M.; MESKARBASHEE, M. Effect of salt stress on chlorophyll content, fluorescence, Na⁺ and K⁺ ions content in rape plants (*Brassica napus* L.). **Asian Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 2, p. 28-37, 2009.

PHANG, T.; SHAO, G.; LAM, H. Salt tolerance in soybean. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.50, p.1196–1212, 2008.

PESSOA, L.G.M.; OLIVEIRA, E.E.M.; FREIRE, M.B.G. DOS S.; FREIRE, F.J.M.; MIRANDA, A. E SANTOS, R.L. DOS. Composição química e salinidade do lixiviado em dois solos cultivados com cebola irrigada com água salina. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 406-412, 2010.

PER, T. S.; KHAN, N. A.; REDDY, P. S.; MASOOD, A.; HASANUZZAMAN, M.; KHAN, M. I. R.; ANJUM, N. A. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and Transgenics. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.115, p.126-140, 2017.

PLAZA, B.M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; JIMENEZ-BECKER, S. Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on *Petunia x hybrida* growth **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 2359-2365, 2018.

POMPELLI, M. P.; FRANÇA, S. C.; TIGRE, R. C.; OLIVEIRA, M. T.; SACILOT, M.; PEREIRA, E. C. Spectrophotometric determinations of chloroplastidic pigments in acetone, ethanol and dimethylsulphoxide. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n.1, p. 52-58, 2013.

RACHIDI, F.; BENHIMA, R.; SBABOU, L.; EL ARROUSSI, H. Microalgae polysaccharides bio-stimulating effect on tomato plants: growth and metabolic distribution. **Biotechnology Reports**, v. 25, 2020.

RAHIMI, V.; BANDANI, A.R. Comparison of the effects of cereal and legume proteinaceous seed extracts on α -amylase activity and development of the Sunn pest. **Journal of Asia Pacific Entomology**, v. 17, n. 1, p. 7-11. 2014.

RAMIREZ, N. N. V. **Estudo do crescimento da microalga *Scenedesmus* sp. Em vinhaça**. 2013, 87 f. Dissertacao - Departamento de Engenharia Química, Univerdidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), 2013. Disponível em:<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/105064/000938416.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em mar. 2020.

REHMAN, S., ABBAS, G., SHAHID, M., SAQIB, M., FAROOQ, A. B. U., HUSSAIN, M. Effect of salinity on cadmium tolerance, ionic homeostasis and oxidative stress responses in conocarpus exposed to cadmium stress: Implications for phytoremediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 171, p. 146–153, 2019.

ROY, S.J.; NEGRAO, S.; TESTER, M. Salt resistant crop plant. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115-124, 2014.

RONGA, D.; BIAZZI, E.; PARATI, K.; CARMINATI, D.; CARMINATI, E.; TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilizers in crop productions. **Agronomy**, v.9, p. 192-214, 2019.

SADAK, M. S. H.; ABDELHAMID, M. T.; SCHMIDHALTER, U. Effect of foliar application of aminoacids on plant yield and some physiological parameters in bean plants irrigated with seawater. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, p. 141-152, 2015.

SAFI, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P.; VACA-GARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265-278, 2014.

SALES, M. A. de L.; MOREIRA, F. J. C.; RIBEIRO, A. A.; MONTEIRO, R. N. F. Potential of pumpkin seeds under different soaking periods. **Revista Brasileira de Biosistemas**, v. 9, p. 289-297, 2015.

SEHRAWAT, N.; BHAT, K.V.; SAIRAM, R.K.; TOMOOKA, N.; KAGA, A.; SHU, Y.; JAIWAL, P. K. Diversity analysis and confirmation of intra-specific hybrids for salt tolerance in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **International Journal of Integrevite Biology**, v. 14, p. 65-73, 2013.

SHAHID, S. A.; ZAMAN, M.; HENG, L. Soil salinity: historical perspectives and a world overview of the problem. **Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques**, p. 43–53, 2018.

SHARMA, H.S.S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J.R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of applied Phycology**, v. 26, n.1, p. 465-490, 2014.

SHRIVASTAVA, P., KUMAR, R. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal Biological Sciences**, v. 22, p. 123–131, 2015.

SHAO, G.H.; WAN, C.W.; LI, S.F. Preliminary study on the physiology of soybean tolerance to salt stress at germinating stage. **Crops**, v. 6, p. 25- 27, 1994.

SHELKE, D. B.; PANDEY, M.; NIKALJE, G. C.; ZAWARE, B. N.; SUPRASANNA, P.; NIKAM, T.D. Salt responsive physiological, photosynthetic and biochemical attributes at early seedling stage for screening soybean genotypes. **Plant Physiologic and Biochemistry**, v. 188, p. 519-528, 2017.

SHUKLA, A. C.; GUPTA, A. B. Agriculture: influence of algal growth-promoting substances on growth, yield and protein contents of rice plants. **Nature**, 477p., 1967.

SILVA, J. L. A. et al. Evolução da salinidade em solos representativos do Agropólo Mossoró-Assu cultivado com meloeiro com água de diferentes salinidades. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.7, n.4, p.26-31, 2011.

SINGH, D.P.; KHATTAR, J.S.; RAJPUT, A.; CHAUDHARY, R.; SINGH, R. High production of carotenoids by the green microalga *Asterarcys quadricellulare* PUMCC 5.1.1 under optimized culture conditions. **PLoS ONE** v.14, n.9, 2019.

STIRK, W. A.; ORDOG, V.; STADEN, J. V.; JAGER, K. Cytokinin and auxin like activity in Cyanophyta and microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 14, p. 215-221, 2002.

SOARES, L. H.; TEIXEIRA, W. F.; DOURADO-NETO, D. Soybean seed treatment with micronutrients, hormones and amino acids on physiological characteristics of plants. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 3314-3319, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed., Artmed, 918 p., 2013.

TARRAF, S.; TALAAT, I. M.; EL-SAYED, A. E. K.; BALBAA, L. K. Influence of foliar application of algae extract and amino acids mixture on fenugreek plant in sandy and clay soils. **NusantBiosci**, v. 7, p. 33-37, 2015.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, n. 1, p. 65-72, 2000.

TEIXEIRA, W. F.; FAGAN, E. B.; SOARES, L. H.; UMBURANAS, R. C.; REICHARDT, K.; NETO, D. D. Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p.327, 2017.

TURKAN, I. Plant responses to drought and salinity stress: developments in a post-genomic era. **Academic Press**, 2011.

TZIN, V., GALILI, G. New insights into the shikimate and aromatics amino acids biosynthesis pathway in plants. **Molecular Plant**, v.3, p. 959-972, 2010.

VARHNEYA, P.; BEARDALLE, J.; BHATTACHARYA, S.; WANGIKARB, P.P. Isolation and biochemical characterisation of two thermophilic green algal species- *Asterarcys quadricellulare* and *Chlorella sorokiniana*, which are tolerant to high levels of carbon dioxide and nitric oxide. **Algal Research**, v. 30, p. 28–37, 2018.

ZHAO, Y. Auxin biosynthesis and its role in plant development. **Annual Review of Plant Biology** v. 61, p. 49–64, 2010.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R. E.; ERVIN, E. H.; DOAK, S. Creeping bentgrass physiological responses to natural plant growth regulators and iron under two regimes. **HortScience**, v.37, p. 898-902, 2002.

ZHANG, J.; YANG, D.; LI, M.; SHI, L. Metabolic profiles reveal changes in wild and cultivated soybean seedling leaves under salt stress. **Plos One**, v.11, 17 p., 2016.

WAN, C.; SHAO, G.; CHEN, Y.; YAN, S. Relationship between salt tolerance and chemical quality of soybean under salt stress. **Chinese Journal of Oil Crop Sciences**, v. 24, p. 67–72, 2002.

WARAICH, E. A. Water stress and nitrogen management effects on gas exchange, water relations, and water use efficiency in wheat. **Journal of Plant Nutrition**, v. 34, n. 12, p. 1867–1882, 2011.

WEINER, J.; PETERSON, F. C.; VOLKMAN, B. F.; CUTLER, S. R.; Structural and functional insights into core ABA signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p.495-502, 2010.

WINTERS, A. L.; LLOYD, J. D.; JONES, R.; MERRY, R. J. Evaluation of a rapid method for estimating free amino acids in silages. **Animal feed science and technology**, v.99, n.1, p.177-187. 2002.